

SÉRIE A, N° 92
N° D'ORDRE : 112

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Pierre GOY

Diplômé d'Etudes supérieures de Sciences naturelles

1^{re} THÈSE. — LES FACTEURS ACCESSOIRES DE LA CROISSANCE
CHEZ LES VÉGÉTAUX INFÉRIEURS

2^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 7 juin 1921, devant la Commission d'examen

MM. GASTON BONNIER, *Président.*

PORTIER, {
BLAISE, { *Examineurs.*

PARIS

IMPRIMERIE A. DAVY ET FILS AÎNÉ

52, RUE MADAME

1921

**LES FACTEURS ACCESSOIRES
DE LA CROISSANCE
CHEZ LES VÉGÉTAUX INFÉRIEURS**

(BACILLES -- SACCHAROMYCES — MUCORINÉES)



SÉRIE A, N° 92
N° D'ORDRE : 112

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

Pierre GOY

Diplômé d'Etudes supérieures de Sciences naturelles

1^{re} **THÈSE.** — LES FACTEURS ACCESSOIRES DE LA CROISSANCE
CHEZ LES VÉGÉTAUX INFÉRIEURS

2^{me} **THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 7 juin 1921, devant la Commission d'examen

MM. GASTON BONNIER, *Président.*

PORTIER, {
BLAISE, { *Examineurs.*



PARIS

IMPRIMERIE A. DAVY ET FILS AÎNÉ

32, RUE MADAME

1921

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen **Molliard**, *Professeur* Physiologie végétale.

Doyen honoraire **P. Appell**.

Professeurs honoraires. { **P. Puiseux**
Vélain
Boussinesq
Bouty

	Lippmann	Physique.
	E. Picard	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	Gaston Bonnier ...	Botanique.
	Kœnigs	Mécanique physique et expérimentale.
	Goursat	Calcul différentiel et calcul intégral.
	Haller	Chimie organique.
	Joannis	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	Janet	Electrotechnique générale.
	Wallerant	Minéralogie.
	Andoyer	Astronomie.
	Painlevé	Mécanique analytique et mécanique céleste.
	Haug	Géologie.
	H. le Chatelier ...	Chimie générale.
	Gabriel Bertrand .	Chimie biologique.
	M^{me} P. Curie	Physique générale.
	Caullery	Zoologie, (Evolution des êtres organisés).
	C. Chabrié	Chimie appliquée.
	G. Urbain	Chimie minérale.
	Emile Borel	Calcul des probabilités et Phys. mathém.
	Marchis	Aviation.
	Jean Perrin	Chimie physique.
	G. Pruvot	Zoologie, anat mie, physiologie comparée.
<i>Professeurs</i>	Matruchot	Botanique.
	Abraham	Physique.
	Cartan	Mécanique rationnelle.
	Cl. Guichard	Géométrie supérieure.
	Lebesgue	Application de l'analyse à la géométrie.
	Lapicque	Physiologie.
	Gentil	Géographie physique.
	Vessiot	Calcul différentiel et calcul intégral.
	Cotton	Physique théorique et physique celeste.
	Drach	Mathématiques générales.
	C. Fabry	Physique.
	Charles Pérez ...	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	N.	Histologie.
	Leduc	Physique.
	Hérouard	Zoologie.
	Léon Bertrand ...	Géologie.
	Rémy Perrier ...	Zoologie (Enseignement P. C. N.)
	Lespieau	Chimie.
	Sagnac	Physique (Enseignement P. C. N.).
	Rabaud	Biologie générale.
	Portier	Physiologie.
	Blaise	Chimie organique.
	Péchar	Chimie (Enseignement P. C. N.

Secrétaire **Daniel Tombeck**..

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur GASTON BONNIER

Membre de l'Institut
Professeur à la Sorbonne

Avec l'expression de ma profonde
gratitude et de mes remerciements
pour son bienveillant accueil, et
pour l'honneur qu'il me fait en
acceptant de présider cette thèse.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MON ÉMINENT MAÎTRE

Monsieur EDMOND KAYSER

Maître de conférences de Microbiologie
à l'Institut National Agronomique
Directeur du Laboratoire de Microbiologie

Il a guidé mes premiers pas en
biologie et m'a sans cesse soutenu
et conseillé. Qu'il trouve ici l'assu-
rance de ma profonde reconnaissance
et mes sentiments très affectueu-
sement dévoués.

A TOUS CEUX

QUI ME SONT CHERS

INTRODUCTION

Raulin, dans son mémorable travail : « Etude chimique sur la végétation », écrivait en 1870 : « Bien que la question des générations spontanées soit aujourd'hui complètement épuisée, peut-être n'est-il pas sans intérêt de faire remarquer que les recherches sur l'*aspergillus* achèvent de renverser l'hypothèse fondamentale de l'hétérogénie. Dans cette doctrine, on est obligé d'admettre que la spontéparité ne se produit que dans les matières organiques naturelles : M. Pasteur fit voir que cette hypothèse est contraire aux faits puisque les organismes inférieurs se développent spontanément dans les milieux artificiels comme dans les milieux naturels. Cependant, il restait ce fait intéressant, que la vie progressait plus lentement dans les liquides artificiels que dans les matières naturelles, de sorte que celles-ci paraissent avoir une force d'organisation supérieure à celle des milieux artificiels, hypothèse assez conforme à la doctrine de l'hétérogénie. Que devient cette hypothèse, s'il est prouvé, comme je le crois, du moins en ce qui concerne les Mucédinées, qu'un milieu artificiel convenablement choisi est plus apte à organiser la matière que les substances les plus putrescibles. » (1)

Depuis cette époque, ce mémoire fût toujours cité en

(1) *Etudes Chimiques sur la végétation*, p. 211.

modèle et à juste titre considéré comme renfermant une part fort grande de vérité.

La conclusion naturelle émanant de l'ensemble du travail précité est celle-ci : la cellule végétale placée dans des conditions favorables peut synthétiser d'une façon totale, absolue, sa propre substance en partant de l'élément minéral, et, de plus, cette synthèse se trouve portée à un certain maximum compatible avec la vie de l'organisme en question, si les conditions qui l'entourent, tant physiques que chimiques, se trouvent judicieusement réunies.

Or, il est notoire qu'aucune des solutions exclusivement minérales proposées pour la culture des infiniment petits, quels qu'ils soient, n'ont donné jusqu'alors des résultats équivalents aux cultures des mêmes êtres en milieux organiques : ces dernières, obtenues au moyen d'infusions, de macérations et d'extractions, contiennent donc, outre les éléments minéraux engagés dans leur complexe et absolument nécessaires aux futurs saprophytes, des corps organiques non indispensables à la cellule capable de les synthétiser de toutes pièces, mais favorisant toujours et dans certains cas d'une façon prodigieuse, la multiplication des organismes qui les rencontrent.

Des résultats analogues peuvent être atteints en ajoutant à la plupart des milieux synthétiques proposés quelques fractions seulement de ces mêmes extraits (une trace de bouillon de Liébig, quelques gouttes de sang, d'urine ou de lait, quelques milligrammes de levures tuées, etc...). Quantités insignifiantes si l'on en juge par les pourcentages additionnés aux milieux dits chimiquement définis, que conseillèrent, depuis l'ère pastorienne, divers bactériologistes s'étant occupés de la question. Ces derniers reconnurent par empirisme la valeur de cet apport insignifiant sans pouvoir en donner une explication satisfaisante.

Le phénomène est-il, dans la physiologie générale, localisé aux êtres monocellulaires ? Ou bien n'est-ce, au contraire,

qu'un paragraphe du vaste chapitre de la nutrition des êtres vivants? Nous ne saurions, en l'état actuel de la question, être par trop catégorique à cet égard, mais il est certain que les recherches ayant fait le sujet du présent travail ont eu pour mobile des découvertes récentes relatives à la nutrition des vertébrés et des phanérogames, découvertes présentant plus d'un point d'analogie avec les effets précités — nous voulons parler des vitamines de Funk et des auximones de Bottomley.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LE PROCESSUS NUTRITIF CHEZ LES VÉGÉTAUX ET LEUR PHÉNOMÈNE DE CROISSANCE

Que l'on parcoure la flore ou la faune du protophyte ou phanérogame du protozoaire au vertébré le plus parfait, un fait capital, parce que général, apparaît à l'observateur : c'est l'assimilation, véritable génération « continue », suivant la pittoresque expression de Gley. Cette règle, qui appartient en propre à la vie, est devenue un des critères les plus marquants de la biologie générale pour la raison même qu'elle ne souffre aucune exception.

L'évolution de tout organisme étant subordonnée à sa nutrition, la succession ininterrompue de synthèses et de décompositions moléculaires effectuées au sein de chacune de ses cellules sera donc en fonction des matériaux puisés par celles-ci dans l'espace.

Or, nous savons depuis les travaux de Laplace, Claude Bernard, J. Liébig, et de tant d'autres naturalistes du dix-neuvième siècle, que la cellule dénuée de « force vitale » ne

crée ni ne détruit rien, les réactions chimiques dont elle est le siège obéissant à la loi de la conservation de la matière. Un peu plus tard, les principes de Robert Mayer et Carnot-Clausius vinrent compléter d'une façon fort heureuse les premières bases de cette nouvelle école : la théorie physico-chimique des phénomènes vitaux, qui se révéla à tel point féconde que l'étude de la vie ne pouvait plus s'arrêter à l'organe ou à la cellule, mais devait descendre beaucoup plus bas pour devenir moléculaire. Les recherches ultérieures sur la nutrition et la prolifération en milieux de compositions connues n'accusèrent point d'autre objectif.

D'ailleurs, on le sait, tous les phénomènes de la vie à la surface du globe peuvent aujourd'hui s'intercaler entre deux opérations : l'une de synthèse des matières organiques complètes, l'autre de leur propre destruction.



Nous ne jugeons pas utile, pour l'intelligence du travail qui va suivre, de reprendre les travaux sur la nutrition effectués jusqu'à ce jour, synthèse d'ailleurs trop énorme pour un cadre si étroit. Il nous suffira de tirer des observations les plus notoires les conclusions qui s'en dégagent logiquement, celles-ci devant nous servir à leur tour d'une sorte de tremplin pour l'abord d'un sujet analogue, mais vu sous un angle un peu différent.

Nous citerons comme introduction à une telle étude, le passage suivant, emprunté à Guillemainot : « Toute l'énergie mécanique déployée par les animaux, ou par les cellules végétales, depuis les mouvements plasmiqes et ciliaires jusqu'aux mouvements de la vie élevée de relations, toute l'énergie thermique libérée depuis la faible émission de chaleur liée au travail de croissance chez la plante jusqu'à la grande production calorique des animaux supérieurs, tout

cela a son origine immédiate dans l'énergie chimique des matériaux de nutrition (1).

Groupons en quelques points ce que les études biochimiques nous apprirent sur la synthèse protoplasmique.

1. — Il est convenu d'appeler aliment toute matière qui, puisée par une cellule dans son substratum, est capable de réparer une partie de sa substance ou lui fournir des matériaux de croissance et de plus, subvenir à ses dépenses d'énergie.

2. — Pour qu'une cellule puisse effectuer son évolution complète, il est nécessaire, hormis quelques conditions physiques indispensables (température, éclairage, tension hygroscopique, etc...) qu'elle ait à sa disposition certains éléments sous forme assimilable, dont les plus importants sont : le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, le soufre et le phosphore, auxquels on doit ajouter plusieurs autres métaux et métalloïdes comme le chlore, le potassium, le sodium, le calcium, le magnésium, le silicium et le fer, sans toutefois pouvoir affirmer que ces derniers ont tous été trouvés après incinération des tissus étudiés.

Il semble même, à ce sujet, que la multiplicité des corps constituants croît avec le degré d'organisation des êtres et que, de plus, certains éléments attribués à ceux-ci ne s'y trouvent parfois qu'accidentellement, la membrane les ayant laissé passer sans utilité pour le protoplasme et par une cause nous échappant le plus souvent, la diversité des radicaux auxquels ces atomes se trouvent unis n'a pu fournir d'indications à ce sujet comme on l'avait espéré un moment. Ces derniers corps, pour la plupart additionnels, ne peuvent être considérés bien entendu comme partie intégrante des molécules constitutives de la matière vivante.

Enfin, certains minéraux, nullement nécessaires à l'édifica-

(1) *Les Nouveaux horizons de la science*, t. IV.

tion d'un protoplasma déterminé, peuvent néanmoins agir sur celui-ci d'une façon considérable : leur utilité ne se manifeste qu'à dose généralement très faible; car, dans le cas inverse, ils sont nettement toxiques, et l'on s'accorde à leur attribuer un rôle catalytique au cours des réactions chimiques intracellulaires ; en outre, plusieurs de ces derniers peuvent se suppléer dans cette fonction si spéciale.

3. — Une substance, alimentaire pour une espèce déterminée, n'est pas nécessairement nutritive pour toute autre cellule, il arrive parfois même qu'un corps organique, alimentaire pour tel individu, ne l'est plus vis-à-vis de celui-ci lorsqu'il a atteint une dégradation plus avancée, devenant utilisable alors par d'autres organismes qui n'auraient pu primitivement l'assimiler ; affaire de question enzymatique la plupart du temps.

4. — Lorsque l'on emploie comme milieu nutritif des solutions salines nettement définies et appropriées à la culture d'une certaine espèce, le poids de la matière organisée obtenu en un temps donné est fonction de la richesse minérale du milieu ; toutefois, si l'on opère par synthèse, c'est-à-dire avec la faculté de pouvoir faire varier le pourcentage de tous les composants, on est frappé par la constance de leur coefficient respectif pour un poids maximum de récolte.

5. — Quand un milieu devient l'habitat d'une espèce bactérienne quelconque, un double courant de matière ne tarde pas à s'établir : l'un, constitué par les substances nutritives, précède l'acte anabolique et va du substratum à l'intérieur de la cellule ; l'autre, résultat des réactions intra-cellulaires, traverse la membrane en sens inverse succédant à la période catabolique.

Le rôle et la nature chimique des produits de la vie cellulaire varient beaucoup d'une espèce à l'autre, mais parmi

ces déchets, quelques-uns, néanmoins, sont rencontrés d'une façon constante, résultant en quelque sorte inmanquablement du jeu des réactions vitales.

6. — Aucune différence n'apparaît entre la chimie physiologique animale et la chimie physiologique végétale, il existe dans les deux règnes des procès de synthèse et de réduction qui se traduisent par un double phénomène d'assimilation et de désassimilation.

Mais si la chimie de la matière vivante est une, il n'en est pas tout à fait de même des rapports existant entre le végétal et son substratum d'une part, et l'animal et le sien d'autre part.

Les végétaux à chlorophylle prolifèrent dans l'espace, en empruntant au monde inorganique tous les matériaux utiles à leur développement, tandis que les radiations solaires leur fournissent, par l'intermédiaire des pigments verts, l'énergie dont ils ont besoin.

Les animaux, dépourvus de chlorophylle et par conséquent incapables de synthétiser à partir de l'élément, ne peuvent accroître leur propre substance qu'aux dépens de matières déjà issues de la vie (tout au moins pour le carbone et l'azote) et élevées en quelque sorte à un certain potentiel : le milieu ambiant ne leur fournissant, par contre, en fait de minéraux, que des matériaux de second plan.

Quant aux végétaux sans chlorophylle, leur mode d'emprunt au milieu extérieur se rapproche beaucoup du processus employé par le règne animal, pour le carbone en tout premier lieu : point de départ des principes immédiats hydrocarbonés, gras et albuminoïdes.

A côté de l'immense majorité de ces êtres — de la bactérie au mammifère — ne pouvant vivre qu'aux dépens de matières organiques préexistantes, quelques organismes dépourvus de chloroleucytes ont néanmoins la faculté de croître en n'empruntant au sol et à l'air que des éléments strictement miné-

raux ; mais ce sont là des exceptions peu rencontrées dans la nature. Le tableau ci-dessous les situera par rapport aux précédents.

A. — VÉGÉTAUX AUTOTROPHES TIRANT LEUR CARBONE
DU RÈGNE MINÉRAL.

α Végétaux à chlorophylle dont le carbone provient de l'anhydride carbonique atmosphérique.

β Certains micro-organismes ayant la faculté de vivre aux dépens de quelques carbonates ou même du CO_2 de l'atmosphère.

B. — VÉGÉTAUX HÉTÉROTROPHES
NE POUVANT VIVRE SANS COMPOSÉS CARBONÉS ORGANIQUES :

γ Végétaux dépourvus de chlorophylle durant leur vie entière.

δ Futurs végétaux à chlorophylle mais dénués de pigments verts pendant leur germination.

Entre ces deux classes s'intercalent les mixotrophes : végétaux capables d'emprunter une partie de leur carbone à la manière des autotrophes, tandis que l'autre partie leur est fournie par des combinaisons organiques toutes faites.

*
* *

Qu'appelle-t-on croissance ?

Comme Bohn, nous partirons de cette idée « que les particularités morphologiques sont les expressions de la constitution chimique et que les variations de constitution chimique précèdent et déterminent les variations de structure » (1). En conséquence, pour comprendre le phénomène de croissance,

(1) *La Chimie et la Vie*, p. 248.

il n'est pas nécessaire, croyons-nous, d'en aborder ici l'étude au triple point de vue morphologique, anatomique et histologique, mais plutôt de bien saisir la liaison qui, d'une part le relie à la nutrition, et, d'autre part, l'attache à la reproduction.

Il ne fait aucun doute aujourd'hui que la multiplication se trouve n'être qu'une conséquence de l'accroissement, sorte de prolongement, lui-même intimement lié au processus nutritif.

Tout être organisé naît, grandit, se multiplie et meurt. Schématiquement, le développement en volume de l'être est subordonné à une prédominance des phénomènes d'assimilation sur ceux de désassimilation : mais cet accroissement n'étant pas indéfini, il arrive fatalement un moment où la cellule se segmente ou bien, par quelque autre moyen, se dédouble au profit d'un deuxième individu (cellule fille), siège, à son tour, d'un nouvel accroissement. Or, s'il est vrai, comme nous le pensons, qu'en biologie les mêmes causes engendrent, *grasso modo*, des effets analogues, du moins, vis-à-vis d'espèces identiques, si d'autre part l'ensemble des phénomènes vitaux résulte bien d'un nombre très grand mais défini de réactions intraprotoplasmiques, comme il n'est point déraisonnable de le croire, on ne peut être taxé d'hérésie en attribuant l'accélération de la croissance à une précipitation des réactions inhérentes à l'assimilation, telle-ci étant alors non seulement accrue dans l'espace, mais également modifiée dans le temps.

Au point de vue physique, nous citerons quant aux causes d'une telle accélération, le passage suivant, également emprunté à Bohn : « Dès 1897, F. R. Lillie et Knowlton, en étudiant l'influence de la température sur le développement des œufs de grenouille, ont indiqué que l'accélération avec la température rappelle celle des réactions chimiques. »

Au point de vue chimique, les études de Raulin éclairèrent d'une vive lumière ce chapitre de biologie générale, si bien

que l'on crut à un moment donné tenir le secret des vitesses de prolifération si diverses qu'offrent parfois des organismes identiques végétant en milieux différents. Toute oscillation à cette époque passait hormis quelques conditions physiques, pour n'être qu'une conséquence de la plus ou moins grande facilité qu'éprouve la cellule cultivée à couvrir ses besoins minéraux.

Nous savons, à l'heure actuelle, que ces phénomènes de croissance peuvent, même lorsque les conditions précitées sont remplies, être modifiés dans un sens ou dans l'autre par l'apport de quelques corps qui, pour n'être pas alimentaires, au sens plastique du mot, n'en ont pas moins une certaine influence sur la marche de l'accroissement protoplasmique : nous voulons parler du bichlorure de mercure, des lécithines, de certains phosphates, de l'acide pyruvique, etc., etc..., corps de nature chimique connue d'ailleurs, mais nullement indispensables, plutôt néfastes même lorsqu'ils sont employés avec excès ou persistance, et d'action bien souvent décroissante, les êtres soumis à leur action s'habituant peu à peu à ces stimulants factices.

Les aliments normaux, habituels des animaux, des végétaux et des êtres inférieurs renferment-ils des corps dynamiquement semblables ? L'analyse chimique nous révéla que leur présence ne revêt ni le caractère permanent, ni le caractère obligatoire.

Le processus nutritif chez les animaux et le rôle des vitamines dans leur croissance.

Nous pourrions, afin de mieux faire saisir la différence qui sépare l'alimentation du règne animal, d'avec celle des végétaux, donner un bref exposé de la question, simple parallèle entre les deux modes de nutrition.

La physiologie humaine nous apprend que les premiers ont besoin, pour croître ou maintenir leur équilibre :

A. D'une quantité suffisante d'énergie (graisse-hydrate de carbone ;

B. D'une quantité suffisante d'aliments azotés sous forme organique complexe (albuminoïde) ;

C. D'une certaine quantité d'aliments minéraux indispensables ;

D. D'une quantité d'eau minimum .

La biologie des grands végétaux et la microbiologie nous enseignent que les seconds, n'ont pas besoin de l'élément organique azoté, pouvant se contenter, sous forme de sels inorganiques dissous, des minéraux reconnus au cours de l'analyse de leurs tissus. (1)

A l'heure actuelle, une nouvelle question se pose : à côté de tous les éléments cités au cours des lignes précédentes,

(1) Il est nécessaire, toutefois, d'adjoindre à ces matériaux certains composés hydro-carbonés au cas où les êtres envisagés ne pourraient utiliser l'énergie solaire.

l'individu appartenant à l'un ou à l'autre règne, n'a-t-il pas besoin d'autres corps, *pour mener à bien et dans les conditions les meilleures, sa complète évolution ?*

En ce qui concerne les animaux supérieurs, la complexité des échanges n'était pas de nature à simplifier cette question. Quant aux végétaux, il sembla longtemps qu'une solution saline bien établie, chose fort rare, leur était non seulement suffisante, mais supérieure à tout complexe organique.

Forts de régimes théoriquement établis, on sait à quelles difficultés de toutes sortes les physiologistes se heurtèrent quand ils voulurent élever certains animaux à l'aide d'aliments plus ou moins synthétisés ou simplement purifiés (1). Nous n'insisterons pas sur les nombreuses hypothèses émises pour tenter d'expliquer ces échecs et ne retiendrons que les faits suivants issus des travaux contemporains relatifs à l'alimentation des vertébrés.

L'attention de certains observateurs fût, au cours de ces dernières années, attirée par les faits suivants : lorsque l'on établit deux lots de jeunes souris, par exemple, composés d'individus d'une même portée et sensiblement de même poids, nourris de rations identiques, pouvant passer à juste titre comme normales et suffisantes, mais avec la seule différence que le lot numéro 1 reçoit ses aliments après stérilisation prolongée à l'autoclave (une heure à 130 degrés), tandis que le lot numéro 2 les ingère crus, on ne tarde pas à voir les animaux du lot numéro 1 atteints d'accidents topiques ou bien s'émacier, arrêter leur croissance et mourir, tandis que les témoins du lot numéro 2 continuent leur évolution normalement. Ces accidents se répètent également si la substance alimentaire, au lieu de passer à l'autoclave, subit une extraction alcoolique un peu approfondie.

Que s'est-il donc passé ? Le régime alimentaire est devenu déficient ! A n'en pas douter, la chaleur avait détruit un ou

(1) Expression qui prendra une signification plus claire dans les pages suivantes.

des composés organiques indispensables au métabolisme de la cellule animale, composés non synthétisables par le sujet qui en est privé et, de plus, agissant à très faible dose, puisque 3 centimètres cubes de lait, représentant un extrait sec de 4 0/0 du poids total de la nourriture, administrés à ces mammifères, suffisaient pour leur éviter les accidents dont il vient d'être question.

L'alcool, de son côté, en dissolvant ces corps, les avait si bien entraînés, que rajouté à des rations primitivement épuisées, celles-ci recouvraient immédiatement leur valeur alimentaire intégrale ; valeur qu'elles n'avaient plus, même si l'on avait pris soin de leur adjoindre les corps gras ou lipoïdes supposés solubilisés.

Nous laisserons volontairement de côté l'historique des recherches relatives aux accidents amenés par l'emploi d'une alimentation exclusivement constituée de riz décortiqué, ces travaux, présents encore à toutes les mémoires, ne nous apprendraient rien de neuf, aussi éviterons-nous une répétition inutile, renvoyant pour ce sujet aux expériences de C. Funk, d'Eykman, etc. Même remarque à propos de l'intéressante théorie des symbiotes, émise par M. Portier, et que l'on trouvera exposée par l'auteur lui-même, dans le Bulletin de la Société d'Hygiène Alimentaire (vol. VIII, n^{os} 9 et 10, 1920).

De tout ce qui précède, le point biologiquement important est celui-ci : la cellule ne peut assurer son anabolisme, ou plus exactement sa croissance, qu'à la condition de pouvoir puiser parmi les matériaux qui lui sont offerts un ou des corps utiles à dose infinitésimale et d'origine eux-mêmes cellulaire.

Ces corps ont été divisés en deux groupes de nature chimique d'ailleurs inconnue, mais présumés être, à tort ou à raison, des acides aminés et dénommés, faute de renseignements plus précis, au moyen de leur faculté de solubilité, soit dans l'eau et l'alcool — facteur hydrosoluble B nécessaire à

la croissance du jeune — soit dans les graisses — facteur lypo-soluble A indispensable à l'équilibre chez l'adulte.

Funk, le premier, réussit à extraire du son de riz une substance cristallisable fondant à 233 degrés, capable de faire céder les accidents polynévritiques survenus chez des animaux soumis à un régime déficient.

Ayant cherché dans les lignes précédentes à exposer tant bien que mal un phénomène encore des plus obscurs à l'heure actuelle plutôt que d'avoir voulu mentionner l'ensemble des travaux qu'une telle découverte ne manqua pas de faire éclore, nous passerons sous silence les rapports qui, suivant certains auteurs, plaident en faveur d'une cause première, identique sinon analogue, quant à l'arrêt de croissance chez le jeune, la mort plus ou moins précoce de l'adulte, la polynévrite expérimentale de Gryns (forme nerveuse du béri-béri), les scorbut, la pellagre, la maladie de Barlow, et en un mot tous les accidents que peut provoquer une nourriture déficiente ou, pour employer un terme que l'usage semble consacrer, une alimentation carencée.

Enfin, nous ajouterons pour mémoire que depuis les travaux de Funk, plusieurs auteurs désignèrent sous le nom de facteur C une vitamine antiscorbutique, d'action nettement différente des facteurs A et B, ceci dit, pour montrer combien la pluralité de ces composés tend à s'accroître.

Quel rôle physiologique ces corps exercent-ils ? Il est difficile, en l'état actuel de nos connaissances sur cette question encore par trop nébuleuse de pouvoir assigner une action bien nette à ces composés : plusieurs hypothèses ont été émises jusqu'à présent. Les unes voient en ces substances des corps utilisés directement par la cellule et indispensables à son chimisme; les autres ne leur accordent qu'une action de présence, véritable catalyseur des réactions intra-cellulaires.

Enfin, certaines rapprochent les vitamines de corps alcoïdiques, leur attribuent un rôle dans l'activité des glandes à

secrétion externe, intéressant par là directement une période déterminée de l'acte digestif.

Pour mieux saisir l'esprit de la première supposition, il est bon d'avoir présent à la mémoire les fameux travaux d'Osborne et Mendel sur les acides aminés synthétisables et non synthétisables par l'organisme ; parmi ces derniers, un certain nombre d'entre eux, indispensables à l'évolution des jeunes, devraient se trouver en proportion déterminée dans toute ration bien équilibrée. La question, en pareil cas, se ramènerait, d'après Schaeffer, à un besoin quantitatif d'amino-acides qualitativement indispensables.

Quant à l'explication de la seconde version, des discussions trop nombreuses ont été soulevées par ce sujet tant en chimie minérale qu'organique, pour que nous puissions faire mieux que d'en donner une définition générale sans chercher à pénétrer un mécanisme dont nous connaissons à peine les premiers éléments.

Nous dirons donc, avec Hollemann, que l'on entend par catalyse, l'action accélératrice (ou retardatrice dans certains cas) exercée sur la marche d'une réaction par une substance étrangère à celle-ci, substance pouvant agir à dose très petite.

Enfin, nous résumerons l'esprit de la troisième hypothèse par les vues de Lumière à ce sujet : « On peut considérer les vitamines comme des agents excito-moteurs de l'appareil gastro-intestinal et excito-sécrétoire des glandes à sécrétion externe, dont l'activité serait indispensable à l'assimilation des aliments. » (1)

Ces trois hypothèses furent tour à tour émises, soutenues, et très discutées. Les derniers travaux relatifs à ce sujet, n'ont pas encore réussi à éclaircir le mystère qui plane sur le mode d'action de ces corps. Les résultats enregistrés n'étant en définitive qu'une conséquence de troubles profonds ; cachés derrière la membrane cellulaire, l'histologie a peut-

(1) *Bulletin de l'Institut Pasteur*, Tome XIX, février 1921, p. 86.

être des chances d'ouvrir quelque peu une voie féconde à l'investigation physiologique dans ces recherches.

Pour nous, un fait est acquis : la prolifération des cellules d'un mammifère est liée à la présence dans la ration de celui-ci de corps organiques très instables, agissant à dose infinitésimale et provenant eux-mêmes du jeu antérieur de cellules végétales, car il y a tout lieu de croire, quant à la provenance de ces corps, qu'amenés par voie alimentaire, ils ne soient en premier lieu originaires de ce règne.

Les vitamines sont-elles nécessaires à la croissance des végétaux ?

De fil en aiguille, la question devait fatalement être posée au sujet des végétaux tant pluri que monocellulaires. Ces composés, ces vitamines, pour les appeler par leur nom, jouent-elles vis-à-vis des phanérogames le rôle par elles détenu dans l'alimentation animale ? Ont-elles même une action quelconque sur la vie végétale ? Si oui, sont-elles de même nature ? Tels ont été les premiers points d'interrogation posés à ce sujet.

D'après les travaux de Bottomley (1) sur la croissance de *Lemna minor* cultivées en milieu de Delmer, il semblerait pouvoir être répondu par l'affirmative ; toutefois, les expériences de ce savant anglais sont, croyons-nous, sujettes à critiques, non pas que nous contestions les résultats acquis, mais plutôt l'interprétation de certaines expérimentations. En tous les cas, un fait certain constaté par Bottomley est l'augmentation du poids des plantules de *Lemna* cultivées sur milieu minéral lorsque celles-ci reçoivent des quantités extrêmement faibles d'un extrait alcoolique de tourbe de *sphagnum* préalablement « bactérisée » et stérilisée par la suite (c'est-à-dire abandonnée à l'action de bacilles aérobies

(1) Proceedings of the Royal Society. 2 August 1915.

isolés de la terre et maintenus quelque temps dans une certaine humidité à 26 degrés, puis chauffée avant utilisation).

Descendant plus bas dans l'échelle des êtres vivants, F. Mockeridge (1) obtint des résultats non moins surprenants vis-à-vis du *Bacillus radicicola* : celui-ci, en effet, cultivé dans une solution minérale appropriée, n'arrivait pas à fixer le tiers d'azote que transformait le même bacille ayant reçu un extrait aqueux ou alcoolique de tourbe traitée de la même manière.

Bottomley et Mockeridge, par contre, n'eurent aucun succès chaque fois qu'ils se servirent d'extrait de tourbe n'ayant pas été préalablementensemencée.

De son côté, Jones (2), en Amérique, enregistra des expériences aussi positives à cet égard ; des terres pauvres furent rendues d'une fertilité bien supérieure à la moyenne lorsqu'il les eût mélangées en diverses proportions à de la tourbe ayant subi le traitement suivant : 1° Mélange avec un peu de chaux ; 2° maintien d'une certaine humidité à 25 degrés pendant 30 jours, et ensemencement au préalable avec des bactéries isolées du sol ; 3° stérilisation de ladite tourbe après ce laps de temps pendant une heure à l'autoclave ; 4° réensemencement par *azotobacters pseudomonas radicola* et bactéries de la cellulose cultivées à nouveau 60 jours à l'étuve ; 5° enfin culture de radis en terres appauvries ayant reçu par lot et respectivement 0 gr. 5, 2 grammes et 10 grammes 0/0 de tourbe ainsi traitée.

Des témoins faits en assez grand nombre permirent à Jones d'établir que les récoltes si luxuriantes de cette crucifère étaient dues à une fixation d'azote beaucoup plus marquée grâce à la tourbe primitivement ensemencée de bacilles divers, ceux-ci ayant favorisé sans doute par quelque déchet de leur vie cellulaire une prolifération bien supérieure d'*azotobacters*.

(1) Proceedings of the Royal Society, 1 June 1917.

(2) Journal of Agricultural Research, 1919.

Maze (1) semble avoir fait faire un pas plus important à la question, il put étudier l'évolution complète du maïs cultivé en solution minérale, « mais, dit-il, si l'on choisit avec quelque soin les produits commerciaux dont on fait usage et si l'on emploie en outre de l'eau distillée d'une pureté convenable, on constate que la plante ne peut pas achever son cycle évolutif dans une solution ainsi épurée. « Le développement est plus régulier chez les plantes cultivées dans des solutions préparées avec de l'eau de source ou de l'eau distillée et des sels ordinaires. »

Maze termine ainsi son travail : « La conclusion qui se dégage de la deuxième série d'expériences est donc en faveur d'une influence bienfaisante des matières organiques ajoutées à la solution minérale ; mais cette même série d'expériences prouve en même temps que les matières organiques ne sont pas indispensables, si l'on en excepte, bien entendu, les réserves séminales, qui, elles, ne sont pas négligeables comme poids, puisqu'elles atteignent environ 4 à 5 décigrammes par graine. »

H. Agulhon et R. Legroux (2) étudièrent un sujet analogue à celui de Mockeridge, mais en partant d'extraits aqueux ou alcooliques de sang défibriné adjoints à des cultures du bacille de l'influenza (B. de Pfeiffer). Pour ces auteurs, les corps actifs se trouvent dans la partie figurée du sang, car ils reconnurent que le sérum restait inactif tandis que les globules, subissant un laquage dans l'eau distillée, finissaient par rendre celle-ci active.

Agulhon et Legroux estiment que le pouvoir de ces substances n'est pas détruit à 110 degrés, enfin, leurs recherches les ont conduits à penser que : « les vitamines ne semblent être spécifiques pour une seule ou quelques espèces bactériennes. »

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*. T. XXXIII, 1919, p. 138.

(2) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. T. CLXVII, 1918, p. 597.

Pour Linossier (1), la question ne fait également aucun doute : « Entre les êtres, animaux ou végétaux, élevés en organisation, qui ne peuvent fabriquer des vitamines et sont obligés de les emprunter à leur alimentation et certains microbes qui en produisent en excès, se développent aisément dans les milieux avitaminés, les champignons inférieurs constituent une classe intermédiaire d'êtres capables de fabriquer des vitamines, mais parfois en quantité insuffisante et perdant cette propriété quand leur vitalité est diminuée ou quand leur alimentation est d'utilisation difficile. »

Ses conclusions sont tirées d'expériences sur l'*oïdium lactis*, le *mycoderma vini* et quelques autres végétaux inférieurs. Ajoutons que Linossier estime qu'une température de 135 degrés est insuffisante pour détruire complètement le pouvoir de ces corps lorsque ceux-ci se trouvent en abondance dans un liquide.

Enfin, la question fut traitée à deux reprises différentes par Auguste Lumière (2) : « Quelques biologistes ont prétendu que les vitamines étaient nécessaires à la croissance des végétaux et cette opinion, généralement admise d'ailleurs, résulte d'expériences dont nous ne contestons nullement les résultats, mais dont l'interprétation ne semble s'accorder ni avec d'autres faits, ni avec les nombreux essais personnels que nous avons poursuivis dans ce domaine. »

Cet auteur attribue les effets bienfaisants de quelques gouttes d'extrait de corps organiques — de raisin sec en l'occurrence — au fait que cette adjonction s'effectua toujours à des milieux très pauvres et insuffisants : « Nous avons pu, dit Lumière, nous assurer qu'un grand nombre de produits chimiquement définis, minéraux et organiques étaient susceptibles, en proportions minimales, de fournir les mêmes résultats que ceux qu'on obtient par cette addition d'infusion de raisin

(2) *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie* n° 11 (12 avril 1919) et n° 11 (20 mars 1920).

sec et parfois même des résultats meilleurs, tous ces matériaux ne sauraient être considérés comme des vitamines. »

La résistance de ces composés organiques aux hautes températures (250 degrés, jusqu'à carbonisation), leur filtrage possible sur la terre à foulon, leur non précipitation par l'acide phosphotungstique, sont autant de faits cités par Lumière pour prouver la non identité de ces corps d'avec les vitamines. « Ces substances ne semblent donc pouvoir être assimilées aux vitamines dont elles ne possèdent aucune des propriétés caractéristiques. »

« On sait, dit encore cet auteur, qu'il est possible de cultiver certains microbes et certains champignons sur des milieux chimiquement définis et ne renfermant pas trace de vitamines : non seulement la pullulation abondante de ces êtres inférieurs est réalisée d'un façon parfaite dans des bouillons complètement dépourvus de toute substance vitaminique, mais il est encore possible d'assurer la croissance et le développement complet des végétaux supérieurs avec des solutions nutritives purement minérales. »

Dans un dernier et récent travail, l'auteur de ces lignes, après de nouvelles recherches résume ainsi ses travaux (1) : « Il résulte de ces expériences que tous les caractères des vitamines constituant les propriétés spécifiques propres à les définir : indispensabilité, impossibilité de remplacement par des composés chimiques définis, sensibilité à la chaleur, précipitation par l'acide phosphotungstique et par les réactifs des alcaloïdes, absorption par la terre à foulon et le réactif de Lloyd manquent aux substances qui peuvent, dans les milieux de culture pauvres, insuffisants, *et dans ces milieux seulement*, améliorer la croissance des végétaux.

« Ces substances stimulantes occasionnelles ne semblent donc pas pouvoir être assimilées aux vitamines. »

(1) Auguste LUMIÈRE : *Influence des vitamines et des auximones sur la croissance des végétaux*. *Ann. de l'Inst. Pasteur*. T. XXXV. Janv. 1921, p. 102.

Parmi les diverses conclusions que tire A. Lumière de ses derniers travaux, nous citerons celle-ci : « L'addition de ces extraits organiques aux milieux pauvres peut être avantageusement remplacée par l'adjonction de sels minéraux chimiquement définis, tout au moins dans le cas des mucé-dinées qui ont été utilisées au cours de ces recherches. »

On voit, malgré quelques contradictions et la brièveté des exposés précédents, qu'un certain rapport semble lier la question des vitamines chez les mammifères à la découverte de corps accélérateurs d'auximones, suivant le terme de Bottomley, chez les végétaux. Nous dirons même, sans dépasser les faits, que les échecs répétés auxquels se heurtèrent bien des expérimentateurs dans la recherche d'une alimentation synthétique se trouvent éclairés d'un jour nouveau à la lueur d'expériences bouleversant actuellement les théories classiques de la nutrition.

*
* *

Le terme malheureux de vitamine ayant été plus d'une fois attribué à des corps dépourvus, nous semble-t-il, de toute propriété vitaminique, il est prudent, au seuil de ce travail, d'en définir les caractéristiques essentielles, ou tout au moins celles qui, vu l'état actuel de nos connaissances à ce sujet, nous autorisent à une certaine délimitation, sans pour cela prétendre en donner une définition *ne varietur*, bien entendu.

Nous appellerons donc *vitamines* (de Funk) ou *facteurs accessoires* (de Mc. Collum et M. Davis) ou *auximones* (1) (de Bottomley), des composés organiques solubles soit dans l'eau et l'alcool, soit dans les graisses, indispensables ou non, suivant les théories au développement des êtres vivants, agissant

(1) Sans préjuger de la parenté qui peut exister entre ces corps.

toujours à dose infinitésimale, destructible par la chaleur, et enfin ne donnant leur maximum d'action qu'adjoints à des milieux nutritifs répondant entièrement — moins ces corps — aux besoins des organismes expérimentés.

Nous profiterons également de cette mise au point pour mettre en garde le lecteur contre certaines expressions pouvant prêter à confusion et rencontrées au cours d'articles écrits sur cette question. C'est ainsi que nous avons relevé le qualificatif « vivant » exprimant l'état sous lequel doivent se trouver certains facteurs accessoires pour agir, c'est-à-dire n'ayant pas été détruits par la chaleur. Ou bien le terme « mort » pour indiquer l'inverse. Ces corps étant des composés organiques et non organisés il ne peut être question de vie ou de mort, mais plutôt de synthèse ou de destruction. Le mot « ferment », également rencontré, nous semble impropre.

Au cours de ce travail, les expressions suivantes furent fréquemment employées : matières ou substances actives ou activantes, corps ou composés organiques actifs, tous synonymes du terme vitamine qui ne nous plaît qu'à moitié. Loin de nous la pensée d'avoir voulu baptiser une substance ayant déjà un nom de famille : facteur accessoire, lui suffisant jusqu'à plus ample information.

*
* *

Nous nous sommes donc proposé :

Premièrement ; de rechercher si les végétaux inférieurs avaient un réel besoin de certains corps organiques à action spécifique, et si l'absence de ceux-ci constituait une raison *sine qua non* à leur développement.

Deuxièmement ; s'il était possible d'obtenir ces corps

par voie biologique à partir d'éléments minéraux chimiquement définis.

Troisièmement ; si leur extraction à l'état pur était réalisable et dans l'affirmative, leur véritable nature, leur composition chimique.

Ces trois paragraphes formeront dans les pages qui vont suivre l'objet du présent travail, mais avant d'entrer dans le vif du sujet, il est, croyons-nous, utile de le délimiter après l'avoir situé au cours des lignes précédentes.

Nous avons employé principalement dans ces recherches un *saccharomyces cerevisiæ* qui, normalement, prolifère bien en milieu artificiel. A cet effet, notre choix s'est fixé sur la levure haute de brasserie portant le numéro 315 dans la collection du laboratoire de microbiologie de l'Institut National Agronomique, dirigé par M. Kayser.

Afin de n'être pas accusé d'avoir trop circonscrit le problème, nous avons tenu, au moyen d'expériences diverses, à prouver que les faits observés ici ne s'appliquent pas aux *saccharomyces* en particulier, mais que, bien au contraire, les végétaux mono ou pluri-cellulaires sont d'une façon générale influencés au même titre que les levures par certains produits de la vie végétative.

D'autre part, il ne nous a pas semblé utile de chercher à identifier les micro-organismes producteurs de corps actifs pour la raison bien simple que les aérobies en sont à peu près tous créateurs, leur différence à cet égard sera donc plutôt une question de quantité ou de qualité qu'un partage entre bacilles positifs et négatifs.

Après nous être convaincus de l'exactitude des faits précités au moyen de nombreuses cultures pures de microbes isolés de terre prélevées en diverses régions, et dont on trouvera, pour quelques-unes, les caractéristiques essentielles page 47, nos efforts se sont plus spécialement portés sur un

organisme doué d'une rare aptitude quant à la synthèse de ces composés spéciaux, nous voulons dire le *Mucor Mucedo* (1).

Il fallait, d'autre part, pour la bonne marche des expériences, arriver à isoler un deuxième être capable également de se développer sur milieu minéral, mais ne possédant pas, ou presque pas, la qualité essentielle nous ayant fait adopter cette mucédinée. Il était tout naturel que nous nous adressions, à cet effet, à l'auteur d'une infection, dont le résultat ne se traduisait en aucun cas par l'amélioration du milieu contaminé ; après quelques recherches, notre choix s'est arrêté sur le *Penicillium glaucum*.

Il est presque superflu d'ajouter que toutes nos cultures s'effectuèrent à l'état pur, et dans des conditions toujours comparables, tant physiquement que chimiquement, nous interdisant à cet égard la moindre approximation. Chaque résultat enregistré ici fut répété à plusieurs reprises afin d'écarter la part d'erreur possible que toute expérimentation nouvelle peut comporter lorsqu'elle n'a pas été suffisamment contrôlée.

Enfin, les méthodes employées offrent à tous les points de vue le maximum de garanties nécessaire ; nous allons d'ailleurs les énumérer une fois pour toutes, nous réservant d'indiquer dans le texte les réactions particulières afférentes à certaines recherches.

Pour apprécier la vitesse de prolifération, 3 méthodes furent employées simultanément, à savoir :

1° La voie pondérale.

Le poids de végétal acquis en un temps donné.

Ce poids fut obtenu par la pesée des filtres ayant servi à séparer les êtres de leur milieu : opération effectuée sur filtres tarés, ronds, sans pli et lavage à l'eau distillée, afin d'en

(1) Pierre Gov. *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, T. CLXXII, p. 242, séance du 24 janvier 1921.

écarter le sucre restant, puis dessiccation jusqu'à poids constant.

2° L'examen microscopique.

La numération des globules par champ (lorsqu'il s'agissait de monocellulaire).

Avec homogénéisation préalable, mais sans dilution, la moyenne portant sur 5 essais différents.

3° La voie chimique.

Le quantum d'alcool produit pour un poids connu de sucre quand nous agissions avec un ferment alcoolique.

Ce troisième indice offrant, durant les premiers jours de la fermentation, un rapport très net entre les poids d'alcool et de végétal, lorsque celle-ci a lieu dans des conditions identiques.

Les graphiques suivants, obtenus à la suite de nombreuses expériences, vont nous éclairer à ce sujet :

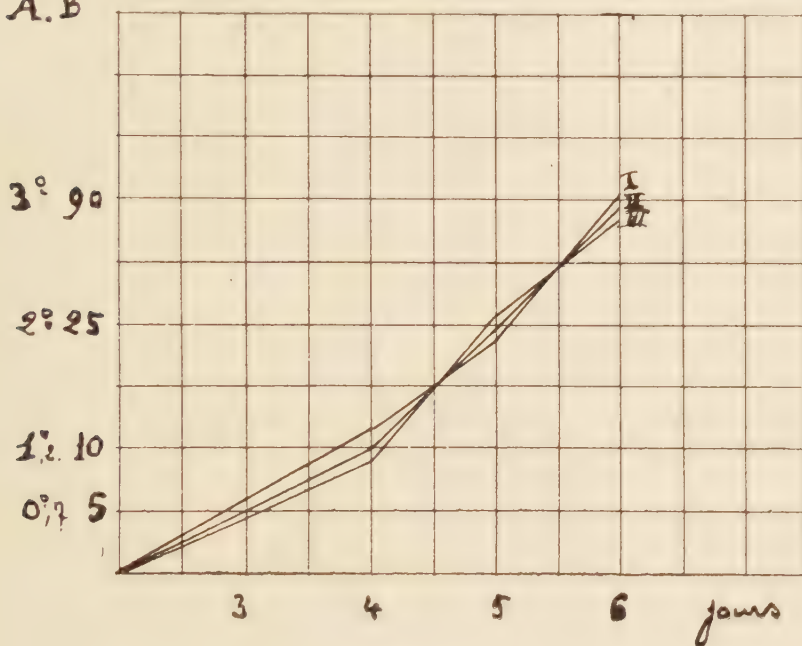
L'alcool fût toujours titré par la méthode du compte-gouttes de Duclaux ; les distillations s'effectuèrent en deux parties, tout d'abord, le liquide à distiller était additionné de quelques gouttes d'acide phosphorique destiné à empêcher la formation d'ammoniaque dans le distillat, car les milieux employés contenant du nitrate d'ammoniaque et de la potasse auraient pu en former sous l'action de la chaleur, d'où erreur possible avec ce mode de titrage. Ensuite, le premier distillat recevait une quantité juste suffisante de potasse pour y neutraliser les acides volatils passés avec l'alcool. Ce n'est qu'après ces deux opérations qu'une seconde distillation nous permettait d'obtenir l'évaluation rigoureuse de la richesse alcoolique des cultures traitées.

Le saccharose fut toujours dosé au moyen de la liqueur de Fehling, et l'acidité par une solution de potasse titrée en se servant de la phénolphtaléine comme indicateur.

L'azote recherché à l'aide de la chaux sodée et du papier tournesol, son dosage s'effectua par la méthode de Kjeldahl, modifiée par Maquenne.

Les deux principaux milieux synthétiques employés furent : le liquide de Cohn (1), convenant bien à la culture de nombreux microbes, et la solution de Mayer (2), particulièrement

A.B



GRAPHIQUE I

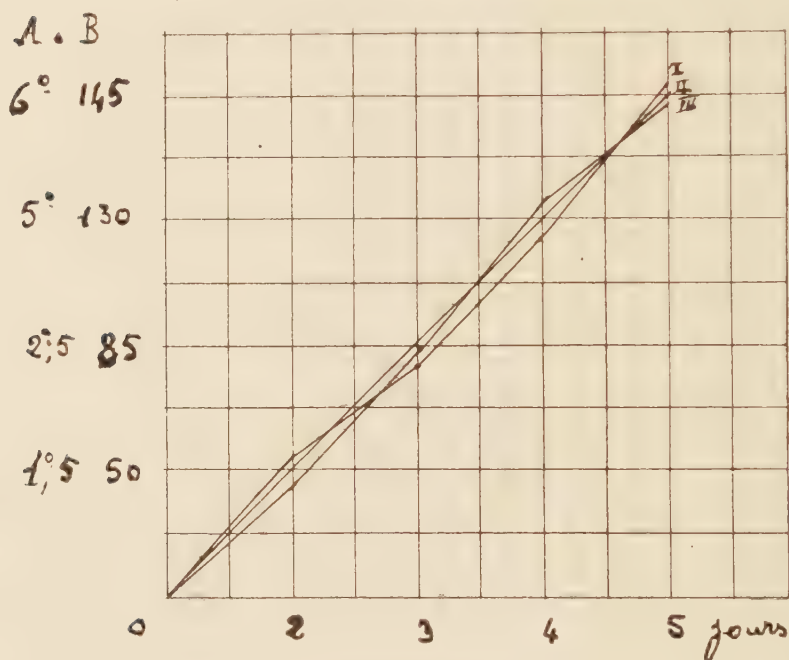
Prolifération des saccharomyces en milieu de MAYER dépourvu de facteur accessoire : rapport entre le taux alcoolique et la multiplication au début de la fermentation. — Colonne A : degrés alcoolique. Colonne B : poids de végétal en milligrammes.

- | | |
|---------------------------------|---------|
| (1) Eau distillée | 200 gr. |
| Tartrate d'ammoniaque | 2 » |
| Phosphate de potasse | 1 » |
| Sulfate de magnésie | 1 » |
| Phosphate tribasique de Ca..... | 0 gr. 1 |
| Saccharose | 2 » |

(2) Voir la composition du liquide de MAYER, page 42.

favorable à celle des saccharomyces (c'est d'ailleurs elle qui, des milieux de Pasteur, de Cohn et de Laurent, nous donna les meilleurs résultats).

Nous avons eu soin, lorsque nousensemencions un milieu



GRAPHIQUE II

Prolifération des saccharomyces en milieu de MAYER additionné de facteur accessoire : rapport entre le taux alcoolique et la multiplication au début de la fermentation. — Colonne A : degré alcoolique. Colonne B : poids de végétal en milligrammes.

neuf, d'en emprunter les germes à une culture jeune effectuée en bouillons naturels (le plus souvent décoction de tóitraison sucrée), car nous avons remarqué, et nous le verrons par la suite que, les milieux antérieurs ayant servi de substratum à ces êtres, influençaient grandement les propriétés biochi-

miques de leur descendance, tout au moins pendant un certain nombre de générations.

A ce sujet, nous avons été plus d'une fois surpris des influences spécifiques marquées que certains liquides organiques, pourtant bien peu dissemblables, comme des moûts de pommes, poires et betteraves, étaient susceptibles d'apporter aux générations issues, des êtres qui y proliférèrent, raison pour laquelle nous avons toujours tiré nos semences de milieux identiques.

Afin d'être complet, nous ajouterons que toutes les cultures s'effectuèrent à la température uniforme d'une étuve réglée à 27 degrés centigrades, et soumise à la lumière solaire diffuse.

Pour les cultures de mucor et penicillium, il fût employé de larges flacons d'Erlenmayer avec tubulure latérale permettant ainsi d'avoir la plus grande surface possible de végétal en contact avec le liquide nourricier, la tubulure facilitant les prises d'essais aseptiques du milieu au cours de la végétation.

Quant au mode d'ensemencement, nous avons écarté systématiquement la pipette, dont l'emploi introduisait dans les milieux artificiels, outre les germes nécessaires, une certaine quantité de matières organiques nuisibles à la bonne interprétation de nos recherches ; nous lui avons substitué le fil de platine, n'ayant pas ces inconvénients et possédant, de plus, l'avantage de n'apporter à chaque ensemencement qu'une dose impondérable et sensiblement constante de cellules.

La supériorité des milieux naturels
en microbiologie
appartient à une espèce de molécules
synthétisables également par les bactéries.

Les milieux minéraux employés en bactériologie représentent-ils exactement ce que tout organisme doit rencontrer pour évoluer normalement? Leur infériorité habituelle ne provient-elle pas justement d'une carence minérale quelconque? Peut-être, mais dans une certaine mesure seulement, car on verra plus loin que leur nutrition, quand elle est *chimiquement parfaite*, ne l'est pourtant pas encore *physiologiquement*.

Il est naturel, et l'expérience d'ailleurs l'a démontré, que plus la composition centésimale d'un milieu se rapprochait de l'analyse fournie par les cendres de l'espèce que l'on se propose d'y cultiver, meilleurs en étaient les rendements, cette idée maîtresse amena Ad. Mayer à composer la solution suivante que nous avons saccharosée au taux de 6 0/0.

	Milieu proposé par Mayer (1)	Analyse de Mitscherlich	Formule donnée par E. Mace (2)	
Acide phosphorique	0.056	56.7	Eau	100
Potasse	0.034	34.0	Phosphate de chaux..	0.05
Magnésic	0.016	7.1	Sulfate de magnésic..	0.25
Chaux	0.005	2.6	Phosphate de potasse..	0.5
			Nitrate d'ammoniaque	0.75

(1) E. DUCLAUX, *Traité de Microbiologie*. T. III, p. 164.

(2) E. MACE, *Traité Pratique de Bactériologie*. T. I, p. 226.

On objectera, et nous le reconnaissons volontiers, que l'analyse chimique des cendres, pas plus d'ailleurs que celle des tissus, ne peut déceler facilement, en l'état actuel de nos connaissances, des doses quasi impondérables de certains métaux tels que le zinc, le fer ou le silicium, dont la présence, justement en quantité si minime, constitue la supériorité du milieu optimum de l'*Aspergillus niger*, par exemple. Nous répondrons à cela que le but de nos recherches ne visait point à une seconde édition du travail de Raulin, nous contentant comme milieu d'une dissolution saline permettant l'édification d'un poids de matière vivante maxima se rapprochant de celui obtenu avec les substances organiques les plus propices, et ceci dans le meilleur temps possible.

Au surplus, nous renverrons aux pages 101 et suivantes où l'on trouvera l'exposé de nos recherches sur le *Sterigmato-cystis nigra* cultivé précisément dans son milieu optimum.

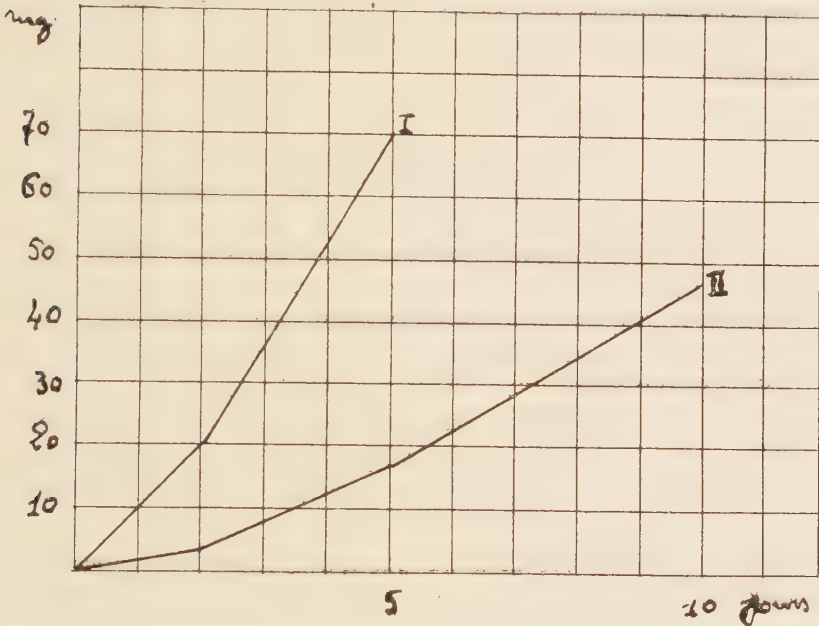
Voici, comparativement, les résultats que nous donnèrent deux séries de cultures faites avec le saccharomyces n° 315, l'une en bouillon de touraillon, l'autre en milieu de Mayer.

Un fait frappe l'observation des courbes du graphique III : partant du même point des abscisses, ces deux traits ne sont pas parallèles ! La prolifération en milieu minéral accuse un retard net sur le développement en liquide organique ; retard que rattrape dans une certaine mesure la levure si on lui en laisse le temps, mais difficilement constatable, un phénomène d'autolyse ne manquant pas de se produire.

Tout se passe donc comme si la substance vivante, mal adaptée à l'évolution en solution saline, bâtissait dans l'unité de temps moins de protoplasme.

La question qui se pose naturellement à l'esprit est celle-ci : les éléments minéraux constituant la plupart des milieux organiques se présentent-ils donc sous une forme, en un agrégat plus apte à former une nouvelle substance, pour-

tant spécifique et souvent très différente, que ces mêmes éléments sous formes inorganiques dépourvus de marque d'origine étrangère, et par conséquent n'ayant pas à s'en dépouiller préalablement, pour s'organiser ensuite.



GRAPHIQUE III

Courbe I : Vitesse de prolifération des saccharomycètes en milieu organique (eau de touraillon saccharosée à 5,1 o/o ; acidité : 0,272 o/o).

Courbe II : Vitesse de multiplication de la même espèce de levure en liquide de MAYER (saccharosé 5,2 o/o ; acidité 0,256 o/o).

Hugounencq disait que l'opération digestive « est un broyage moléculaire, première étape d'une reconstruction, qui, de produits étrangers inaptes à entrer dans l'édifice orga-

nique, fera des matériaux spécifiques, c'est-à-dire adaptés à l'espèce considérée ».

Faut-il conclure, malgré cela, que si les milieux biologiques sont encore supérieurs, c'est qu'ils offrent à la cellule en voie d'accroissement, contrairement aux solutions minérales, des noyaux organiques, sortes de cadres tout faits, omnibus, à partir desquels certains protéiques pourraient s'édifier ?

Y répondre équivaldrait à trancher l'éternelle question posée au sujet de la démolition totale ou partielle des albuminoïdes au niveau des chylifères de la muqueuse intestinale des mammifères par exemple, nous ne prétendons pas le faire. Mais, de quelque manière que l'on envisage actuellement le problème, de deux choses l'une : ou la supériorité des milieux organiques doit être attribuée à l'utilisation plus ou moins directe de l'ensemble des molécules constitutives dont la valeur collective doit logiquement décroître avec leur dilution ; ou bien de ces diverses molécules, quelques-unes seulement ont une valeur intrinsèque supérieure, à la condition toutefois que les divers éléments plastiques nécessaires soient présents avec elles.

La première de ces deux suppositions a longtemps prévalu parce qu'elle n'avait pu être infirmée catégoriquement ; la seconde, plus récente, va trouver une justification dans l'exposé suivant. Quatre tubes remplis d'une solution minérale reçurent avant stérilisation (5 minutes à 105 degrés) les adjonctions énoncées plus bas, puisensemencés finalement à l'aide de la levure 315.

Ces cultures nous donnèrent les résultats suivants :

TABLEAU I : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 6 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

	Acide total en SO_4H^2	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc.		Numé- ration
			à l'état sec	par rapport au témoin	
			—	—	
			en mgr.	en mgr.	
A. Solution de MAYER, <i>témoin</i>	0 gr. 070	2°6	32		80
B. Solution de MAYER + 40 mg. o/o de touraillon brut frais	0 » 120	9°56	70	+ 38	125
C. Solution de MAYER + 1 c.c. o/o d'un épuisement aqueux de touraillon	0 » 112	10°417	72	+ 40	130
D. Solution de MAYER + 1 c.c. o/o d'une 4 ^e eau d'épuise- ment de touraillon	0 » 104	3°424	51	+ 19	91
E. Liquide de MAYER + 0,5 d'eau ayant lavé de la terre bac- tériée	0 » 128	6°890	68	+ 36	112

L'examen des chiffres ci-dessus est suffisamment clair pour nous autoriser à penser que le touraillon (comme la majeure partie des extraits de tissus) apporte au milieu de Mayer un complément organique nécessaire lui permettant d'acquérir du coup la valeur nutritive des meilleures décoctions employées en microbiologie.

Il ne peut plus être question, on le voit, d'une supériorité attribuable à l'ensemble des formes moléculaires constitutives, mais plutôt à la présence parmi ces dernières d'une espèce dont le rôle, quoique secondaire parce que non indispensable, n'en joue pas moins une action prépondérante quand elle est adjointe à des milieux satisfaisants au double point de vue chimique et énergétique.

Nous laisserons dans nos recherches le germe d'orge comme nous avons abandonné la tourbe, préférant à ces complexes par trop obscurs, des produits composés pour ainsi dire entre nos mains par des organismes de notre choix et

soumis à notre propre volonté ; réunissant par là un certain nombre de facteurs connus au plus grand profit d'une meilleure induction.

Si, au lieu de cultiver sur de la tourbe divers microbes, nous nous servons des liquides de Cohn ou de Mayer comme substratum, les résultats obtenus sont du même ordre de grandeur que ceux enregistrés par les auteurs dont nous avons brièvement exposé les travaux, et en tous points comparables à l'action précitée du touraillon. Voici les faits :

Cinq bacilles aérobies différents (1) isolés de prélèvement effectués sur des terres de l'Oise, de Seine-et-Marne, des Deux-Sèvres, du Calvados et du Maine-et-Loire servirent à l'obtention de cultures pures conservées 24 jours à l'étuve.

Après ce laps de temps, chacune d'elles fut adjointe à du liquide de Mayer en la proportion de 1 0/0 ; le tout stérilisé 4 minutes à 110 degrés et finalement ensemencé avec le saccharomyces 315.

Après 5 jours d'étuve, nous obtenions les résultats suivants :

TABLEAU II : Cultures de *S. cerevisia*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

	Acide total en SO^3H_2 — gr.	Alcool 0/0 —	Poids de végétal par 100 cc. —		Numé- ration —	
			à l'état sec — en mgr.	par rapport au témoin — en mgr.		
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	0 040	0°600	10		8	
2. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture de P ² (1)	0 208	2°368	48	+ 38	118	
3. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture de M ¹ ...	0 184	3°553	62	+ 52	139	
4. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture de S. M.	0 224	7°454	73	+ 63	142	
5. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture de M. L.	0 222	3°478	63	+ 53	129	
6. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture de C....,	0 328	3°469	61	+ 51	128	

(1) Voir les caractéristiques de ces microbes page 47.

PROVENANCE	HABITAT au moment du PRÉLÈVEMENT	DÉSIGNATION dans le foye	ASPECT DES CULTURES SUR				MORPHOLOGIE
			BOULEON DU BACILLON	BOULEON DU TUBERAILLON	BOULEON DE TUBERAILLON GÉLÉ	POUSSE DE TUBER	
Catavados	Luzernière	M ¹	Trouble, avec faible dépôt.	Légèrement trouble, avec faible dépôt.	Petite colonie rouge, légèrement saisillante, d'un blanc mal, jaune par transparence avec cercle clair au centre.	Liquéfié, les colonies annu- elles, jaunes, se dissolvent dans l'eau à la suite de la liquefaction de la pousse.	Bacille courbe à granulations inférieures légè- rement mobile
Maine-et-Loire	Terre de culture	ML	Peu trouble, léger dépôt.	Peu trouble, léger dépôt.	Colonie feston- née, d'un blanc luisant, peu sai- illante, blanc clair par transparence	Développement négatif.	Bacille péti- olé, immobile.
Seine-et-Marne	Prairie	P ²	Trouble, sans voile.	Peu trouble, avec voile blanc.	Petite colonie rouge, bombée, et très saillante.	Liquéfié avec vile; développe- ment négatif, en profondeur. Colo- nie très petite et ronde.	Bacille très long, un peu courbe, immo- bile.
Deux-Sèvres	Terre de route	SM	Trouble, sans dépôt ni voile.	Peu trouble, avec légers flocons en suspension.	Colonie ronde, grisâtre, bombée, à bord plus clair par transparence.	Colonie sèche, blanche, et réti- culée.	Bacille très long, ramifié et cassé.
Oise	Terre de jardin	C	Peu trouble, avec voile en surface.	Très trouble, léger voile frac- tionné en sur- face.	Petite colonie rouge, bombée, d'aspect crémeux à bord clair par transparence.	Liquéfié, peu; petite colonie ronde et blanche. En piqure déve- nant l'aspect du tominoir.	Long bacille courbé, immo- bile.

TABLEAU III : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

I. — LIMITES ENTRE LESQUELLES PEUT JOUER LE PHÉNOMÈNE D'ACCELERATION SUIVANT LE GÉNÉRATEUR DES FACTEURS ACCESSOIRES.

	Acide total en SO ₄ H ₂	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc. par rapport au témoin		Numé- ration
			à l'état sec — en mgr.	en mgr.	
A. Liquide de MAYER, témoin	gr. 0 082	1°200	14		16
B. Liquide de MAYER + 0 c.c. 6 o/o d'une culture de <i>Mucor- Mucedo</i> en milieu analogue âgée de 16 jours	0 220	7°850	76	+ 62	147
C. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o d'une culture de <i>Peni- cillium glaucum</i> (mêmes conditions que B)	0 182	2° 0	20	+ 6	38

II. — ACTIONS RÉCIPROQUES DE DIVERSES CULTURES.

	Age des cultures	Acide total en SO ₄ H ₂	Saccharose restant 0/0 (Origine 1 gr. 58)	Poids de végétal par 100 cc. à l'état sec
1. Culture de <i>Penicillium glaucum</i> en liquide de Cous, témoin.....	5 jours	0 gr. 152	0 gr. 158	0 gr. 100
2. Culture de <i>Mucor- Mucedo</i> en liquide de Cous, témoin.....	40 heures	0 gr. 240	1 gr. 11	0 gr. 110
3. Culture de <i>Mucor- Mucedo</i> + 1 c.c. 5 o/o d'une culture de <i>Peni- cillium glaucum</i>	40 heures	0 gr. 264	1 gr. 08	0 gr. 135
4. Culture de <i>Penicillium glaucum</i> + 1 c.c. 5 o/o d'une culture de <i>Muco- mucedo</i>	5 jours	0 gr. 168	0 gr. 47	0 gr. 115
5. Culture de <i>Mucor- Mucedo</i> + 1 c.c. 2 o/o d'une culture de sac- charomyces 315	40 heures	0 gr. 368	0 gr. 69	0 gr. 220
6. Culture de <i>Penicillium glaucum</i> + 1 c.c. 2 o/o d'une culture de sac- charomyces 315	5 jours	0 gr. 168	0 gr. 47	0 gr. 080

Partis d'une demi-douzaine de minéraux et de quelques cellules, nous avons à nouveau circonscrit le phénomène en des limites plus étroites : les chiffres du tableau III montreront entre quels extrêmes il peut se mouvoir et le degré de réciprocité qu'ont entre eux les divers organismes étudiés ici.

Nous avons obtenu des résultats du même ordre avec les cinq bacilles mêmes dont il vient d'être question, avec le *B. Megatorium*, quelques streptocoques et staphylocoques divers.

Le tableau ci-dessus a été constitué au moyen d'expériences faites, quant aux levures, en des conditions d'aérobiose utilisées partout ultérieurement. Les chiffres ci-dessous, au contraire, donneront un aperçu sur l'accroissement que l'on peut obtenir de saccharomyces employés comme végétal, c'est-à-dire cultivés avec une grande surface d'aération, et sous faible épaisseur de liquide, sans se soucier de leur pouvoir ferment.

TABLEAU IV : Cultures de *S. cerevisiæ*.

I. — LES SACCHAROMYCES CULTIVÉS DANS DE LARGES CONDITIONS D'ARÉROBIOSE
DONNENT EN PRÉSENCE DE FACTEURS ACCESSOIRES,
QUATRE FOIS PLUS DE RÉCOLTES EN UN TEMPS DONNÉ.

	Nombre de jour de culture	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc. par rapport au témoin		Numération
			à l'état sec	—	
			en mgr. en mgr.		
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> ..	3	0°900	50		89
B. Liquide de MAYER + facteur accessoire	3	2°600	90	+ 40	165
C. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> ..	5	4°500	60		110
D. Liquide de MAYER + facteur accessoire	5	7°450	250	+ 190	innombrable
E. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> ..	7	8°855	105		170
F. Liquide de MAYER + facteur accessoire	7	9°900	325	+ 220	innombrable

TABLEAU V : Cultures de *S. cerevisiae*.

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

I. — CES CORPS ACTIFS TRAVERSENT FACILEMENT LES PAROIS D'UNE BOUGIE
CHAMBERLAN B.

	Acide total en SO_4H_2	Alcool 0,0	Poids de végétal par 100 cc.		Numé- ration
			à l'état sec	par rapport au témoin	
	en gr.		en mgr.	en mgr.	
1. Liquide de MAYER, témoin..	0 024	1°170	16		19
2. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o d'une culture de saccha- romyces effectuée sur même milieu et filtrée à travers bougie Chamberlain B....	0 160	3" 0	53	+ 37	112

II. — CES COMPOSÉS ACCÉLÉRA-
TEURS PEUVENT ÊTRE EX-
TRAITS DE DIVERS TISSUS VÉ-
GÉTAUX
(à raison de 1 c.c. o/o).

A. Liquide de MAYER + pom- mes de terre	0 376	9°700	70	+ 54	140
B. Liquide de MAYER + ca- rotte	0 304	9°100	65	+ 49	132
C. Liquide de MAYER + pomme	0 184	9°875	49	+ 33	70
D. Liquide de MAYER + orange		9°910	71	+ 55	147
E. Liquide de MAYER + citron		8°415	69	+ 53	136

III. — LA PRÉSENCE DE CES
CORPS PEUT ÊTRE MISE EN
ÉVIDENCE A L'AIDE DE LAIT DE
VACHE FRAIS BACTÉRIOLOGI-
QUEMENT PUR, D'URINE ASEP-
TIQUEMENT RECUEILLIE, OU
D'UN AUTOLYSAT DE LEVURE.

1. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o de lait	0 232	6°325	61	+ 45	110
2. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o d'urine	0 096	5°115	65	+ 49	98
3. Liquide de MAYER + 0 c.c. 5 o/o d'autolysat	0 176	7°810	75	+ 59	132

D'ores et déjà, il appert nettement des résultats obtenus que ces accélérations ne peuvent être imputées qu'à des corps organiques capables d'être composés de toutes pièces par la même espèce de cellules, conséquence de réactions inhérentes à leurs fonctions vitales.

Endogènes de par leur origine, ces corps finissent par traverser normalement la membrane cellulaire au cours de la vie, en dehors de celle-ci, ils peuvent quitter, par osmose provoquée, par compression ou par autolyse, le lieu même de leur formation.

Voici, à l'appui de ces dire, quelques chiffres qui contribueront pour une certaine part, à rendre plus fructueuse l'interprétation des expérimentations ultérieures. Nous les avons obtenus à l'aide d'extractions totales de certains végétaux, au moyen de lait bactériologiquement pur, d'urine aseptiquement recueillie, et de divers autolysats. (Voir tableau V, page 50).

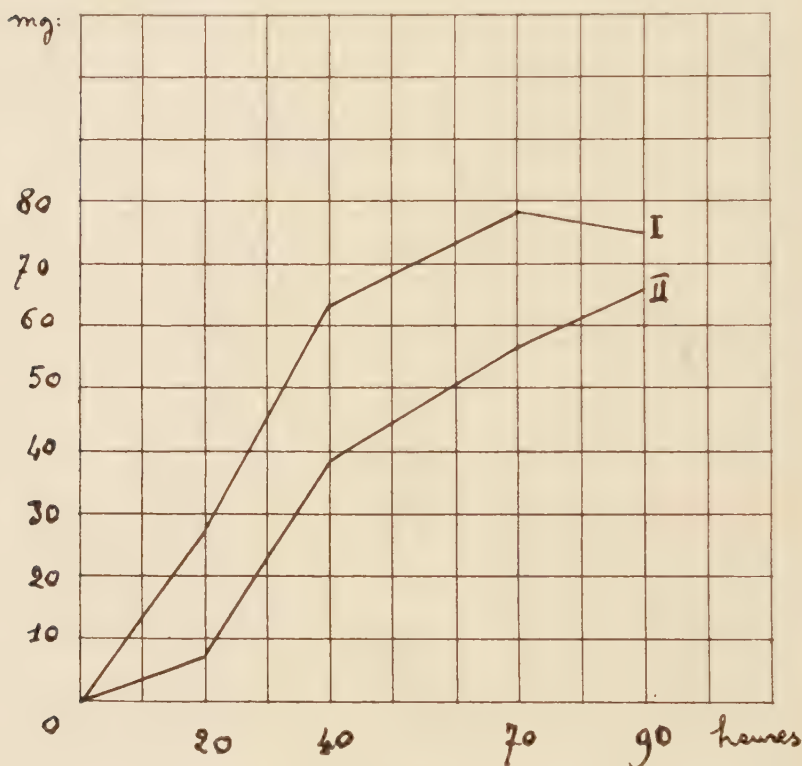
*
* *

On conçoit aisément que si ces substances activantes sont véritablement des *facteurs accessoires*, tout l'avantage de leur présence ne sera acquis qu'autant que les *facteurs essentiels* ne feront pas défaut.

Or, les expériences de Jones et de quelques autres expérimentateurs ne semblent pas réunir cette dernière condition, puisque c'est à une terre « pauvre », par exemple, que le biologiste américain adjoint un peu de tourbe, et, à l'aide d'un simple liquide tartro-glycérique, que Lumière tenta une partie de ses expériences.

A notre avis, le problème ainsi posé, quoique présentant le même genre d'intérêt, se double peut-être d'autres phénomènes dont il est difficile de faire exactement la part. La terre dont se sert Jones est-elle médiocre par absence seulement des corps organiques dont il l'additionne, ou bien en plus du déficit de ceux-ci, manque-t-elle, dans une certaine mesure,

de minéraux indispensables? Quelle est la cause de son appauvrissement? tout est là!



GRAPHIQUE IV

COURBE II : Allure du développement des saccharomyces en bouillon de touraillon additionné de 2 o/o de liquide de MAYER stérile.

COURBE I : Allure du développement des saccharomyces en bouillon de touraillon additionné de 2 o/o de liquide de MAYER ayant hébergé auparavant le *Mucor Mucedo* pendant 12 jours.

Nous avons pensé, pour qu'un tel reproche ne nous fût pas adressé, établir au moyen d'un corollaire indubitable, le rôle et la valeur de ces composés : si leurs adjonctions aux milieux organiques favorables ont une action nettement posi-

tive, il ne nous sera plus permis d'émettre le moindre doute à leur sujet, et, de plus, le dernier scrupule que nous ayons, celui de ne pas opérer dans des conditions absolument propices, tombera fatalement du même coup.

Nous avons, à cet égard, employé l'infusion de touraillon saccharosée. Or, voici, traduites par deux courbes, les vitesses de prolifération que la levure acquiert dans ce milieu, suivant qu'il se trouve additionné ou non de 2 centimètres cubes 0/0 de culture de *Mucor Mucedo* (Voir graphique IV, page 52).

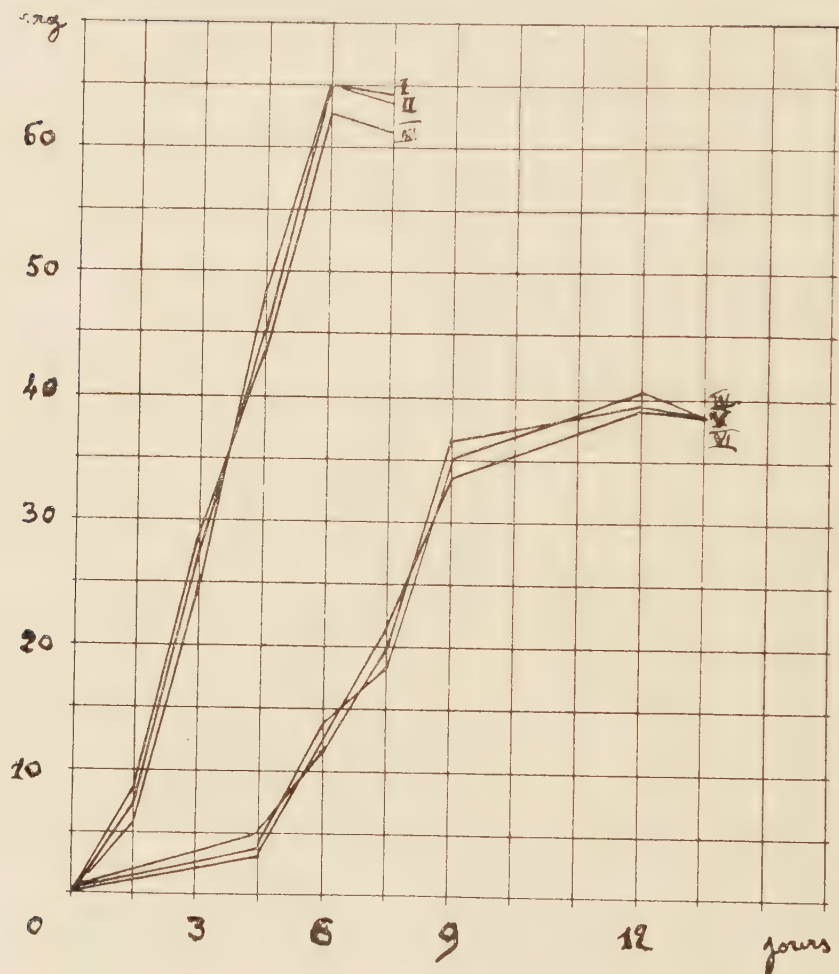
Le non parallélisme de ces deux traits prouve donc encore ici nettement l'effet bienfaisant d'un tel apport, et plaide en sa faveur. Or, rapprochons ces graphiques des deux courbes de la page 43. Nous y voyons d'abord un avantage marqué à l'actif du touraillon par rapport à la solution minérale, puis cet avantage accru ici par l'addition de la même solution saline lorsque celle-ci hébergea primitivement un être vivant.

Avec la méthode synthétique, c'est-à-dire par emploi de milieux chimiquement définis et adjonction de la 250^e partie d'un liquide analogue, mais où proliféra pendant 15 jours une espèce végétale quelconque, les résultats ne sont pas moins édifiants.

*
* *

Il a été dit tout à l'heure, au sujet du graphique montrant la marche des proliférations comparatives de la levure, suivant qu'elle se trouvait en infusion organique ou en milieu minéral, que celle-ci, si on lui en laissait le temps, rattrapait en ce dernier cas, dans une certaine mesure, l'avance acquise par les générations effectuées en eau de touraillon.

Une remarque s'impose ici : les récoltes obtenues en fin de compte sont-elles parcellées, sans considération de temps ? Les nombreuses expériences entreprises à ce sujet nous permettent d'affirmer qu'entre deux essais comparatifs effectués en solution minérale, mais dont l'un seulement avait reçu des



GRAPHIQUE V

Les courbes : I, II, III donnent les poids moyens de levure fournie par une série de cultures effectuées en liquide de MAYER additionné de facteur accessoire.

Les courbes : IV, V, VI résultent de cultures effectuées dans les mêmes conditions, mais dépourvues de facteur accessoire.

facteurs accessoires, les poids de cellules et d'alcool obtenus sont toujours supérieurs dans ce dernier cas quel que fut le laps de temps écoulé, pour un même poids de saccharose. (Voir graphique V, page 54).

Cette constatation : premièrement, rend plus difficile l'interprétation de la loi du minimum, laquelle joue ici pour le carbone, qui, donnant plus d'alcool et de CO_2 , devrait pourvoir moins de cellules ; deuxièmement, ce fait est en contradiction avec les résultats donnés par le *Stérigmatocystis nigra* en milieu de Raulin (Voir page 103).

*
* *

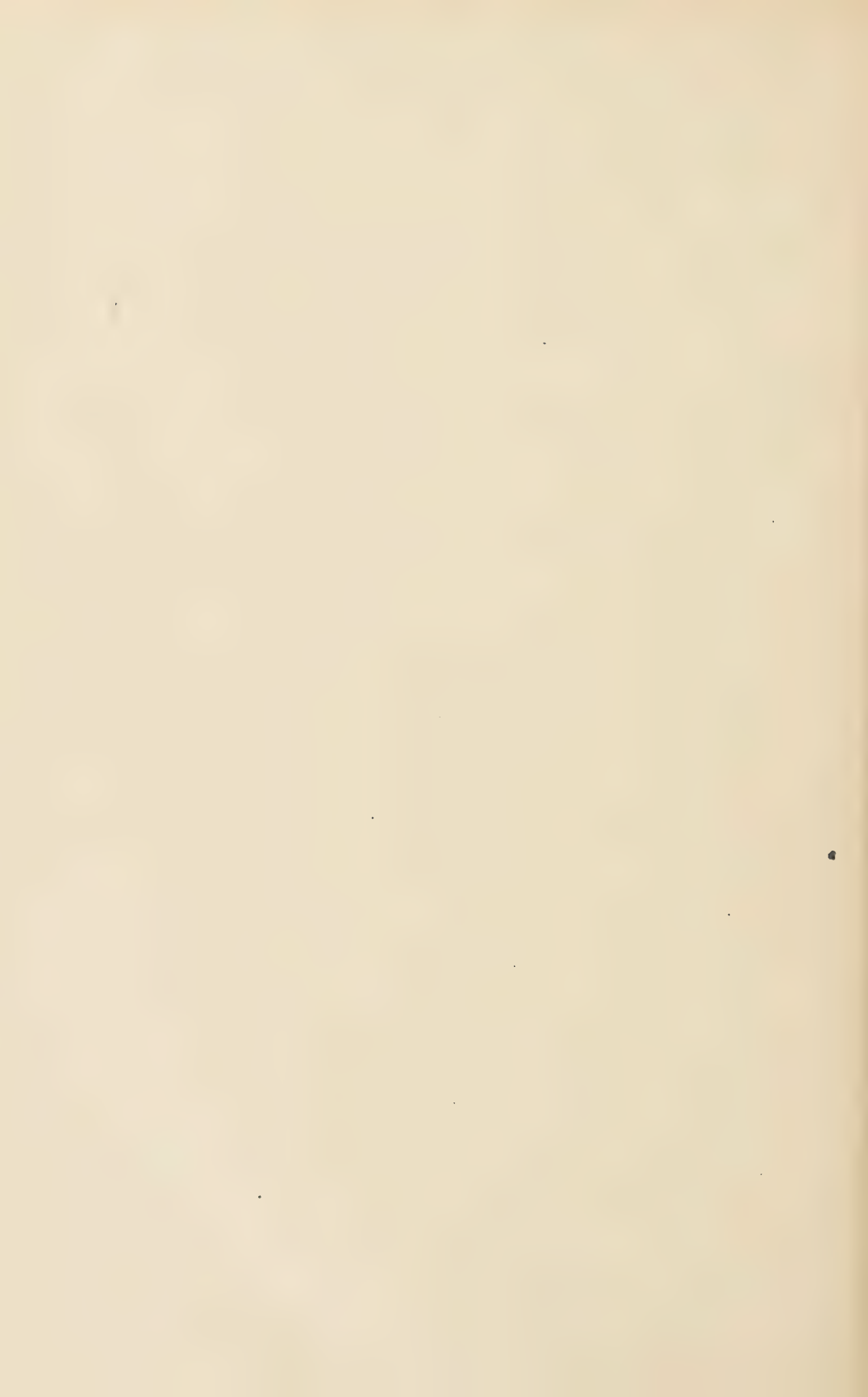
Nous nous voyons forcé de donner ici quelques chiffres, afin de montrer combien la substance qui va nous occuper peut être facilement solubilisée par l'eau, l'alcool, et l'éther. Mais, pour ne pas être amené à répéter deux fois notre *modus faciendi*, nous renverrons aux pages 89 et 90 où l'on trouvera exposée en détail la méthode que nous avons imaginée pour obtenir ce corps à l'état pur et cristallisé.

TABLEAU VI : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

I. — L'EAU, L'ALCOOL ET L'ÉTHER SONT SUSCEPTIBLES DE SERVIR POUR L'EXTRACTION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE ACTIVANTE ISSUE DE CULTURES MICROBIENNES.

	Acide total en SO ₄ H ²	Alcool 0/0	Poids végétal par 100 cc. par rapport au témoin		Numé- ration
	—	—	à l'état sec	—	—
	en gr.		en mgr.		
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> ..	0 024	1°115	18		19
B. Liquide de MAYER + extrac- tion alcoolique	0 096	3°905	68	+ 50	120
C. Liquide de MAYER + extrac- tion éthérée	0 080	4°110	70	+ 52	128
D. Liquide de MAYER + extrac- tion aqueuse	0 112	3°345	59	+ 41	97



Action spécifique des molécules accélératrices synthétisées par les végétaux inférieurs

Ces corps activants sont-ils par eux-mêmes énergiques ? Nous ne le pensons pas, car l'analyse et l'expérience démontrèrent qu'ils ne peuvent pas plus suppléer au manque de phosphore ou d'azote par exemple, que temporiser d'une manière générale les exigences minérales de tel ou tel organisme. Tout au plus, étant carbonés, sont-ils aptes à remplacer dans une faible mesure l'atome C d'un hydrate de carbone, car nous avons pu, en effet, avoir quelques végétations de *Mucor* en liquide de Mayer dépourvu de sucre mais additionné d'un peu de matière organique activante pure.

Là se borne le rôle plastique de cette individualité chimique qui n'a pu, ni faciliter le développement du ferment lactique en milieu minéral sans le secours de peptone, ni permettre la moindre végétation lorsqu'elle fut employée en vue d'obtenir une culture de *Mucor Mucedo* sur certains milieux minéraux rebelles, mais pourtant bien aptes — par expérience — à engendrer la vie.

D'autres recherches nous apprirent également, ceci n'est pas pour nous surprendre d'ailleurs, que l'élément carbone offert à ce végétal sous forme minérale (CO^3K^2 et CO^3Na^2) n'a pu, comme à l'habitude, être assimilé même en présence de ce facteur.

Il est donc nécessaire, on le voit, d'opérer en pareille

matière avec des milieux répondant qualitativement et quantitativement, à toutes les exigences des êtres vivants.

Véritable facteur accessoire, un tel composé ne saurait suppléer à un déficit minéral de quelque nature qu'il fût. Nous en aurons un exemple encore plus frappant page 102.

*
* *

Les lignes suivantes ne feront que confirmer cette assertion, et, de plus, l'emploi d'exemples nouveaux nous permettra de voir sous un jour différent un phénomène qui ressemble singulièrement à ceux révélés par Funk et son école.

Nous avons vu que des mammifères soumis à une alimentation volontairement carencée n'évoluaient pas normalement : les sujets astreints à un tel régime ne disparaissent pas immédiatement, mais finissent par mourir malgré la présence en leur ration quotidienne des corps dynamiquement indispensables à leur nutrition, du moins à ceux que l'on jugeait seuls nécessaires il n'y a pas encore bien longtemps.

Les cellules animales — ou certaines d'entre elles seulement — deviennent donc incapables de synthétiser, de faire, au moyen de substances hétérogènes, une nouvelle matière spécifique analogue à la leur.

Au sens étymologique du terme, les animaux soumis à ce régime meurent-ils d'inanition ? Il ne peut en être ainsi puisque, d'après Osborne, Mendel et Ferry, des rats blancs soumis à une alimentation déficiente (mot pris dans le sens que nous lui connaissons), arrivent à vivre plus d'un an, mais « ne conservent une santé parfaite qu'en tant que leur croissance est arrêtée complètement ».

De son côté, Houlbert (1) formule la conclusion suivante,

(1) HOULBERT : *Contribution à l'étude des vitamines*. Thèse pour le doctorat en médecine, Paris 1919.

après une longue étude histologique des organes de la reproduction de poulets mâles avitaminés : « La carence alimentaire en vitamines a donc exercé sur l'organe génital mâle une action immédiate qui s'est traduite par un arrêt des divisions et des métamorphoses cellulaires qui se produisent normalement dans les tubes séminaux à l'âge où l'animal a été sacrifié. »

Si, reprenant le milieu minéral où jusqu'alors notre levure proliférait normalement, nous lui substituons comme source d'azote, l'urée, à la place de nitrate d'ammoniaque, en quantité équimoléculaire, la vie des saccharomyces au sein d'une telle solution devient excessivement précaire, et leurs réactions vitales d'une lenteur extraordinaire.

Or, en ajoutant à un milieu analogue une dose minime de matière organique activante pure, la multiplication des êtres placés dans ces conditions se trouve, non seulement, prodigieusement accélérée, mais l'aspect morphologique de ceux-ci également fort différent.

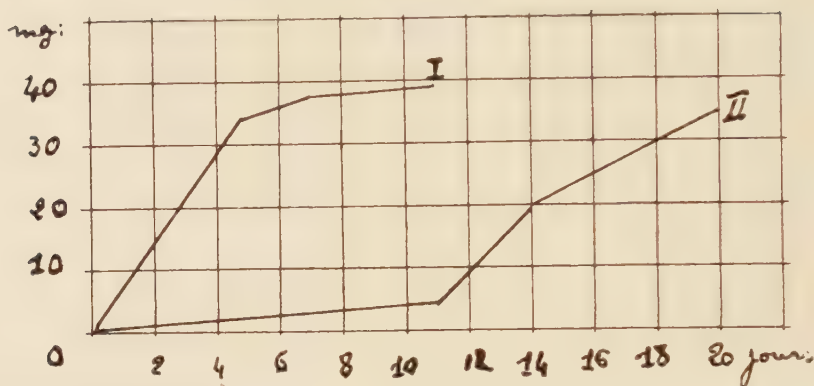
Nous retiendrons de ces premières constatations les faits suivants :

1° La levure ne tire pas immédiatement de l'urée tout le profit que ce composé quaternaire devrait sembler au premier abord lui offrir.

2° Une telle alimentation n'est cependant pas une cause de mort pour le saccharomyces, puisqu'il peut continuer malgré cela à accroître son poids, quoique fort lentement.

3° L'apport d'un certain corps organique *non azoté* (1) en quantité infime, est suffisant pour conférer à CON^2H^4 une valeur alimentaire digne de sa richesse en azote.

(1) Voir page 127.



GRAPHIQUE VI

La courbe II traduit la marche de prolifération de la levure en milieu de MAYER dont l'azote s'y trouve sous forme uréique (quantité isomoléculaire de N.).

La courbe I traduit le même phénomène quand il se passe en présence de facteur accessoire.

Il est difficile, en voyant ce graphique, de ne pas avoir présents à l'esprit les faits suivants, relatés par Schaeffer : la farine de coton employée telle quelle pour la nourriture des animaux est déficiente, ne pouvant assurer leur développement ; tandis que complétée par quelqu'autre végétal en quantité fort minime, celle-ci devient du coup parfaitement utilisable.

La solution de Mayer-urée ne nous a-t-elle pas fourni un terme intermédiaire au sujet de la multiplication des levures ? N'a-t-elle pas amplifié un phénomène constaté auparavant quand nous avons comparé les vitesses de prolifération si différentes acquises par ces mêmes êtres, suivant le genre de substratum (liquide de Mayer normal et bouillon de touraillon) où ils vivaient. Les causes chez ces derniers ne sont pas exactement de même nature que celles ayant agi sur le rat, c'est entendu ; mais, s'il n'est pas impossible que préci-

sément deux causes différentes soient susceptibles de produire des effets analogues — nous en avons maintes preuves en biologie — sachant que la formation de tissus nouveaux, aussi bien chez le vertébré que chez la levurè, se trouve favorablement influencée par l'apport que l'on sait, on est tenté d'envisager, au premier abord, une similitude dans le mécanisme intime, profond, de la synthèse cellulaire, puisqu'il y a une telle identité quant à la façon dont les éléments atteints réagissent !

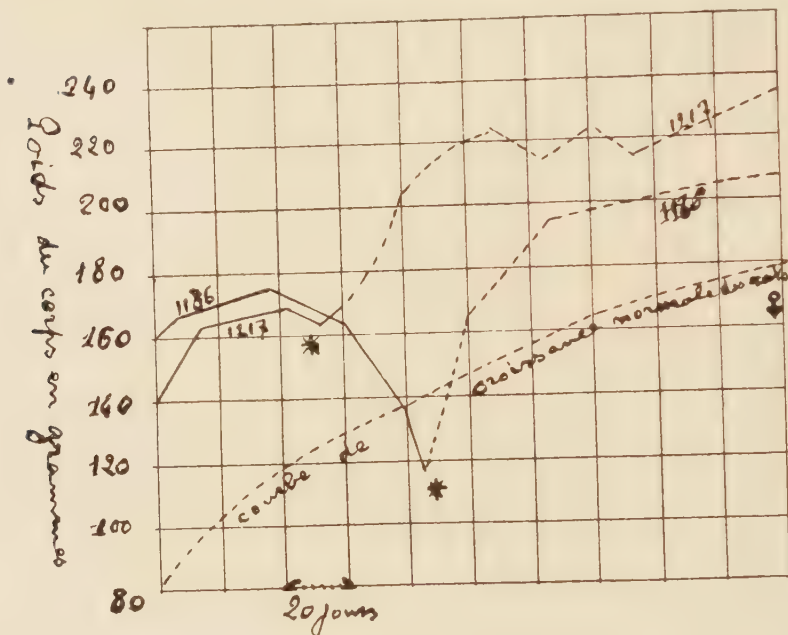
**Action de facteur accessoire de la croissance
sur des saccharomyces
en mauvais état de résistance physiologique**

Il avait été employé comme semence jusqu'alors, pour chaque expérience, des cellules ayant proliféré auparavant en milieu organique ; les premières générations issues de celles-ci en avaient hérité un certain état physiologique grâce auquel les dégénérescences dont nous venons de parler ne s'en trouvaient être que plus voilées.

Si, au contraire, partant d'une culture faite en bouillon de touraillon, nous décidions d'ensemencer successivement une demi-douzaine de tubes emplis de liquide de Mayer identique, et à intervalles aussi rapprochés que possible (chaque réensemencement d'un tube au suivant se fit dès que deux ou trois cellules apparurent dans le champ du microscope), on ne tarde pas à voir une sorte de dégénérescence s'accroissant ; diminuant avec chaque tube et la vitesse de prolifération et la production d'alcool dans l'unité de temps.

Ayant persisté, nous avons vu notre levure, après avoir atteint un certain maximum de décrépitude, remonter tant soit peu la pente. Réhabilitation néanmoins passagère, puisque fatalement les levures, comme les monocellulaires en général, finissent par dégénérer sans espoir de rémission quand on les cultive trop longtemps sur le même milieu minéral.

Arrêtons-nous quelques instants au graphique représentant ce phénomène (page 65) et essayons, à l'aide des connaissances acquises antérieurement, de voir au travers de cette courbe en V quelques points communs, quelques analogies



GRAPHIQUE VII

COURBE IV (OSBORNE et MENDEL, *Journ. Biol. Chem.* T. XVI, p. 435, 1913).

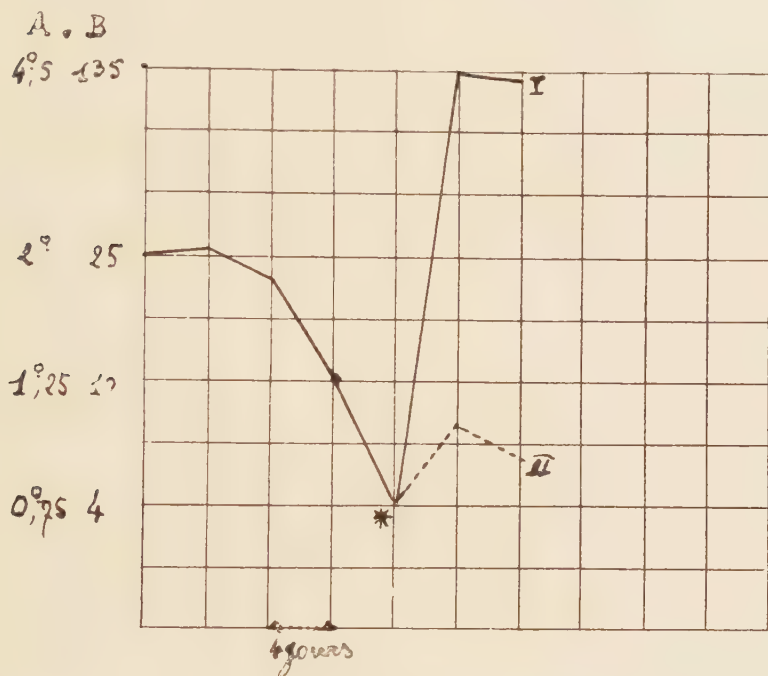
En traits pleins, courbes de croissance de 2 rats femelles au régime :

N° 1186 séine lactalbumine } petit lait
N° 1217 caséine } désalbuminé

A partir du signe * on a substitué dans chaque ration 18 o/o de beurre à 18 o/o de saindoux. L'action du « fat soluble A » se fait immédiatement sentir.

avec une autre courbe : celle d'Osborne et Mendel, relative à l'alimentation des rats soumis à un régime carencé. Nous la donnons ici, après l'avoir extraite du Bulletin de l'Institut

Pasteur (1), pensant faire mieux saisir par un simple rapprochement visuel ce que de longues explications auraient difficilement réalisé.



GRAPHIQUE VIII

La courbe I traduit jusqu'à l'astérisque la dégénérescence dont sont frappées les levures cultivées un certain temps en milieu minéral.

A partir du signe * (jusqu'à I) il a été adjoint au régime inorganique 1,5 mg. o/o de facteur accessoire.

Le trait pointillé résulte de l'accoutumance à laquelle se font les saccharomyces proliférant en solution minérale.

Examinons l'évolution du rat n° 1.186 (graphique VII).

Tout d'abord, le point le plus bas de la courbe portant ce numéro est marqué d'un astérisque ne représentant qu'un

(1) *Bulletin de l'Institut Pasteur*. T. XVII, n° 1, page 16.

moment dans la dégénérescence de cet animal, puisque des témoins soumis à un régime identique furent conservés vivants bien plus longtemps ; ensuite, la branche ascendante (pointillé), de cette même courbe finit par dépasser le point le plus haut de sa branche descendante, pour la raison bien simple qu'Osborne et Mendel avaient opéré nécessairement sur de jeunes sujets dont la croissance n'était pas terminée.

Ceci posé, revenons à notre propre graphique VIII et n'en considérons tout d'abord que la branche descendante. Celle-ci, à nos yeux, représente la partie qui, dans la vie physiologique de ces êtres, se rapproche le plus à cet égard des mammifères cités précédemment. Nous avons placé un astérisque à l'endroit où, dans ce régime, fût adjointe une dose minime de matière organique, tout comme Osborne et Mendel l'indiquaient de leur côté, traçant de ce fait également un V caractéristique.

Ce n'est qu'à partir de ce point, et de ce point seulement, que la levure semble différer des organismes supérieurs, c'est là que l'on serait tenté de voir apparaître un mécanisme d'adaptation empêchant de pousser plus loin le rapprochement ; car nous nous heurtons alors ici à une branche ascendante, inexistante dans les travaux du même genre relatifs aux vertébrés.

Ajoutons qu'il a été constaté pendant la période précédant l'astérisque que les cellules de levure présentaient de notables diminutions en volume à mesure que nous nous rapprochions de ce point, phénomène enrayé immédiatement par l'apport d'extrait organique actif, et reprenant en sens inverse avec une intensité que reproduit bien la marche si rapidement ascendante de la seconde partie de cette même courbe.

*
* *

Il nous a été possible de pousser la similitude beaucoup plus loin en employant cette fois de vieilles levures.

Tout d'abord, mettons en évidence l'influence que peut présenter en la matière l'âge des cultures auxquelles on emprunte ordinairement la semence.

TABLEAU VII : Cultures de *S. cerevisiæ*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

A. — SEMENCE EMPRUNTÉE A UNE CULTURE EN BOUILLON DE TOURAILLON AGÉE DE 14 JOURS.

B. — SEMENCE EMPRUNTÉE A UNE CULTURE EN MÊME MILIEU AGÉE DE 137 JOURS.

	Alcool 0/0	Poids de végétal à l'état sec par 100 cc.	Numé- ration
1. Bouillon de touraillon + semence A	7°800	71	129
2. Bouillon de touraillon + semence B	2°450	47	64

En conséquence, si, prenant quelques germes de *saccharomyces cerevisiæ* cultivés pendant 128 jours à 27 degrés sur liquide de Mayer, nous les plaçons respectivement dans une solution analogue, mais avec ou sans matière organique active, l'examen des cultures ainsi préparées offre, après 9 jours d'étuve, les résultats suivants :

TABLEAU VIII : Cultures de *S. cerevisiæ*

ANALYSES EFFECTUÉES 9 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

C. — SEMENCE EMPRUNTÉE A UNE CULTURE DE BOUILLON DE TOURAILLON AGÉE DE 128 JOURS.

	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc. par rapport à l'état au témoin		Numé- rations
		à l'état sec	en mgr. en mgr.	
3. Liquide de MAYER, témoin.	0° »	0		aucun développ.
4. Liquide de MAYER + matière organique activante se- mence C	7°104	59	+ 59	98

Nous pouvons, pour le moins, en conclure que les cellules utilisées n'étaient pas mortes, mais devenues incapables de multiplication en milieu minéral pur.

Au premier abord, le mot similitude, employé quelques lignes auparavant, est de nature à choquer l'esprit et semblerait avantageusement remplacé par le terme antynomie, puisque c'est à l'aide de vieux organismes que nous avons expérimenté, et non au moyen de jeunes êtres en pleine croissance. Nous répondrons à cela qu'en mycologie, les levures, comme du reste tous les êtres monocellulaires, ne meurent pas, à proprement parler, de vieillesse, mais plutôt d'une inaptitude à croître, à se reproduire, imputable en dernier ressort et dans une certaine mesure à une nutrition précisément défectueuse. (Toutes substances de déchet mises à part, bien entendu).

A quelle époque de la vie cellulaire les molécules organiques accélératrices sont-elles engendrées ?

Conditions présidant à leur disparition.

A quel moment de l'évolution cellulaire cette « stimuline », ce corps actif, apparaît-il ? Est-il engendré dès les premières manifestations de la vie, ou bien sa synthèse n'a-t-elle lieu qu'au déclin des éléments figurés ? Le cadre où s'élabore cette individualité chimique est si petit, et le renouvellement des êtres qui concourt à cette création, si rapide, qu'il est bien difficile d'assigner un stade ou une phase pendant laquelle notre matière doit plutôt s'élaborer.

Tout ce que nous pouvons faire c'est enregistrer à partir de quel moment telle ou telle culture devient accélératrice vis-à-vis de milieu neuf.

Voici, par exemple, en ce qui concerne la levure 315, le pouvoir que son liquide nourricier acquiert au fur et à mesure qu'elle se développe.

TABLEAU IX : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

	Acide total en SO_4H^2 — en gr.	Alcool 0/0 —	Poids de végétal par 100 cc. par rapport à l'état sec au témoin		Numé- ration
			à l'état sec en mgr.	en mgr.	
A. Liquide de MAYER, témoin..	0 024	1°200	17		22
B. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture identique âgée de 24 heures	0 025	1°197	18	+ 1	20
C. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture identique âgée de 48 heures	0 027	1°271	19	+ 2	29
D. Liquide de MAYER + 2 c.c. o/o d'une culture identique âgée de 3 jours	0 050	2°987	57	+ 40	81

Il est difficile, dès lors qu'une telle action se manifeste au début du 3^e jour de culture, d'attribuer ce phénomène à des corps issus d'une décomposition globale de matière protéique; d'un début d'autolysat *post mortem*, comme le prétendaient certains auteurs.

A ce sujet, rappelons-nous qu'on ne peut obtenir en général de multiplication en solution minérale si l'on part d'un seul globule de levure un peu affaibli. D'après Naumann (1), le développement de *saccharomyces* en milieu chimiquement défini ne s'effectue jamais qu'aux dépens de cellules mortes, et dont l'azote organique servirait aux premières cellules en voie de multiplication; matière dont n'auraient pas besoin les jeunes organismes.

Est-ce bien à l'azote qu'il faut attribuer le rôle que lui assigne Naumann?

Il se peut, mais, comme d'autre part, nous avons réussi dans des conditions analogues, à obtenir une multiplication abondante de levure, en partant d'unité vieille mise dans des

(1) NAUMANN. *Zeitschf. f. techn. Biologie*. T. VII, 1919, page 1.

solutions minérales dépourvues d'azote sous cette forme, mais additionnées simplement d'un certain corps ternaire (voir analyse page 127 ; peut-être l'azote n'est-il pas le seul élément à posséder cette vertu, ou bien accompagne-t-il d'autres corps analogues à celui dont nous nous sommes servi.

D'autre part, le *Mucor Mucedo*, même tout jeune (3^e jour après ensemencement et n'ayant pas encore sporulé (état blanc) a déjà conféré à son milieu nutritif un pouvoir activant que le temps n'amplifie pas, il semble même, d'après les nombreuses expériences faites à ce sujet, que les cultures douées d'une telle propriété l'acquièrent très rapidement au plus haut degré, tant qu'il y a accroissement, pour la perdre ensuite, peu à peu, et bien avant même que la mort n'ait atteint leur générateur.

Notons, toutefois, une exception à la règle, celle-ci nous est donnée par le *Penicillium glaucum*, dont les cultures, nous l'avons cru, étaient dépourvues d'activité ; notre erreur provenait d'un emploi trop hâtif de celles-ci, mais, somme toute, si nous tenons compte de l'inactivité de culture de *penicillium* encore plus âgée, on voit notre végétal faire retour à la loi commune après un simple décalage dans le temps. Au surplus, notre corps accélérateur, pour absent de ces jeunes cultures, n'en était pas moins préformé, car, en tuant de telles cellules par la chaleur, cette substance n'étant plus retenue par la membrane cellulaire vivante, la traverse en vertu des règles de l'osmose et se répand dans le substratum où nous l'y avons rencontrée.

Des résultats analogues, obtenus par le traitement de *Mucor Mucedo*, nous laissent penser que le composé organique actif trouvé dans son milieu de culture ne représente, somme toute, qu'une fraction supplémentaire de la totalité de ce dernier.



Que devient, par la suite, cette matière activante ? Car il nous fut impossible de retrouver sa trace après quelques semaines au sein même des milieux où elle fut émise. Est-elle de nature si instable que son existence soit éphémère à ce point ! Nous ne le pensons pas, car, séparée de toute cellule vivante par chauffage ou filtration, nous avons pu alors la conserver bien plus longtemps.

De même, du vin de Moselle vieux d'une trentaine d'années environ, s'est montré complètement inactif, tandis qu'un liquide analogue, mais âgé de quelques mois seulement, possédait encore, au moment de son emploi, la précieuse qualité d'activer la multiplication des levures ; le premier, au microscope, ne montrait aucun globule de *saccharomyces*, mais quelques bacilles, le second pas la moindre cellule.

Ce corps, à la manière de certaines substances de déchets, est-il, comme l'alcool par exemple, employé alimentaires ? Ou bien, émis continuellement par de jeunes cellules, réintègre-t-il au fur et à mesure les plus vieilles jusqu'à sa complète disparition ? Sa destruction résulte-t-elle d'une réaction chimique due à des composés engendrés après lui, ou bien, tout simplement d'une oxydation accélérée seulement par la présence d'êtres vivants ?

Nous n'en savons trop rien exactement, pourtant quelques faits nouveaux vont, dans une certaine mesure, éclaircir la question.

A. — Tout d'abord, si nous prenons un mycelium de *mucor* âgé de 2 semaines, que nous le plaçons aseptiquement à l'étuve vers 27 degrés dans de l'eau froide pure pendant 17 jours, on peut remarquer que, durant ce « jeûne », le *mucor* se fane sans qu'il n'y ait ni dissociation ni décompo-

sition de sa part. L'eau pure, de plus, n'a pas acquis de propriété particulière durant ce laps de temps ; mais si nous tuons ensuite le mucor par un simple chauffage, 24 heures après, l'eau distillée qui le baignait devient elle-même activante.

Donc, le composé organique n'avait été ni détruit, ni utilisé par le végétal durant la période critique à laquelle il venait d'être soumis.

B. — Si, à la place de cette mucorinée, nous employons une plante verte *Réséda Phyteuma*, séchée et conservée deux années dans un herbier, l'extrait aqueux obtenu par ébullition de ce végétal agit positivement sur les saccharomyces, tandis que la même plante conservée dans les mêmes conditions depuis plus de 200 ans (spécimen ayant appartenu à l'herbier Vaillant) et traitée d'une façon identique, n'eût presque aucune influence sur l'évolution des levures.

C. — De la terreensemencée de bacilles divers et, de ce fait activante, conservée à l'état sec pendant 9 mois, avait perdu, au bout de ce temps, toute propriété accélératrice.

D. — Des graines de maïs, appartenant à une collection constituée il y a environ 30 ans, nous ont donné d'excellents résultats, mais, au contraire de la matière activante extraite à l'état pur (1) et conservée à peine six mois en tube de verre (sans prendre de précautions particulières au sujet de la lumière, de la température ou de l'état hygrométrique de l'atmosphère), s'est montrée presque totalement dépourvue d'action.

(1) Voir page 88 son mode d'obtention.

TABLEAU X : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

	Acide total en SO_4H_2 — en gr.	Alcool 0 0 — en mgr.	Poids de végétal par 100 cc. — à l'état sec — en mgr.		Numé- ration
				par rapport au témoin en mgr.	
I. — LE CORPS ORGANIQUE CON- FÉRANT AUX JEUNES CULTURES UN POUVOIR ACTIVANT DISPA- RAIT AVEC LE TEMPS DE CES MÊMES MILIEUX.					
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	0 017	0°750	12		14
2. Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 de culture de <i>Mucor-Mu- cedo</i> effectuée en milieu ana- logue mais âgée respective- ment de 15 jours.....	0 056	3°987	66	+ 54	112
de 19,3 jours	0 016	0°810	13	+ 1	16
3. Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 de culture microbienne C effectuée dans des condi- tions identiques au n° 2, mais âgée respectivement de 20 jours	0 224	3°910	58	+ 46	119
de 40 jours	0 032	0°805	11	1	15
II. — LES MILIEUX DE CULTURE SÉPARÉS DE TOUTE CELLULE VIVANTE CONSERVENT LONG- TEMPS INTACT LE CORPS OR- GANIQUE ACTIF.					
A. Liquide de MAYER + 0 c.c. 8 0/0 d'une culture de <i>S. cere- visiae</i> filtrée à la bougie et conservée 236 jours	0 096	3°300	60	+ 48	115
B. Liquide de MAYER + 1 c.c. d'une culture de <i>S. cerevisiae</i> de 20 jours	0 088	4°405	68	+ 36	124

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS RESENCMENT

	Acide total en SO ₄ H ₂ en gr.	Alcool 0/0 —	Poids de végétal par 100 cc.		Numé- ration —	
			à l'état sec —	par rapport au témoin		
				—		—
III. — DU VIN DE L'ANNÉE A UNE ACTION MARQUÉE SUR L'ÉVOLUTION DES LEVURES TANDIS QUE DU VIEUX VIN N'EN A AUCUNE.						
1. Liquide de MAYER + 0 c.c. 5 o/o de vin (1920).....	0 097	4°810	50	+ 38	102	
2. Liquide de MAYER + 0 c.c. 5 o/o de vin (1893)	0 019	0°833	14	+ 2	17	

IV. — ACTION DE DÉCOCTION EFFECTUÉE A L'AIDE D'ÉCHANTIL-
LONS DE *Réséda Phyteuma*
CONSERVÉS DES TEMPS DIFFÉ-
RENTS.

A. Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/o décoction <i>Réséda Phyteuma</i> (1919)	0 095	4°200	58	+ 46	99
B. Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/o décoction <i>Réséda Phyteuma</i> (1715)	0 039	2° »	20	+ 8	18

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMCMENT.

		Poids de végétal par 100 cc.		
	Alcool 0/0 —	à l'état sec	par rapport au témoin	Numération
		en mgr.	en mgr.	
V. — INFLUENCE RESPECTIVE DE TERRES FRAICHEMENT BACTÉ- RISÉES OU CONSERVÉES 9 MOIS A L'ÉTAT SEC.				
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> ..	1°501	18		21
2. Liquide de MAYER + 2 c.c. 0/0 d'eau ayant servi à laver de la terre ensemencée 1 mois auparavant	5°906	64	+ 46	118

	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc.		Numération
		à l'état sec	par rapport au témoin	
		— en mgr.	— en mgr.	
3. Liquide de MAYER + (même adjonction que n° 2) (vieille terre séchée)	1°710	19	+ 1	25
VI. — ACTION D'UNE DÉCOCTION DE VIEILLES GRAINES DE MAÏS ET DE MATIÈRE ORGANIQUE AC- TIVANTE EXTRAITE 6 MOIS AU- PARAVANT.				
A. Liquide de MAYER + décoc- tion vieilles graines.....	6° 1	69	+ 51	127
B. Liquide de MAYER + matière activante conservée à l'état sec	1°877	21	+ 3	28
VII. — ACTION DES DYALISATS DE JEUNES MUCOR ET PENICIL- LIUM.				
A. Liquide de MAYER + dya- lisats mucor	7°909	71	+ 53	innombrable
B. Liquide de MAYER + dya- lisats penicillium	6°101	68	+ 50	138

Que devons-nous en conclure ?

Tout d'abord, à une certaine analogie entre de pareils faits et ceux enregistrés par les physiologistes au sujet des facteurs accessoires A et B. Ensuite, à une conservation beaucoup plus longue des qualités de ce composé organique actif lorsqu'il est en solution à l'abri de cellules vivantes, ou bien au sein de ces cellules lorsque leur vie est très ralentie (graine), ou bien encore mortes et conservées en herbier à l'état sec, par rapport à un extrait pulvérulent.

Ensuite, si nous groupons diverses constatations, la disparition plus ou moins rapide de la qualité activante apparaît comme d'autant moins évitable, qu'elle semble d'ordre pure-

ment chimique. Ce qui nous incite à penser qu'extraite et concentrée à température très basse, dans le vide, on pourrait peut-être, par cette méthode, arriver à conserver fort longtemps notre matière et sa précieuse qualité.

Mais alors, et c'est là un des points obscurs de la question, comment expliquer qu'une telle substance placée dans un four Pasteur ne soit pas encore altérée vers 140 ou 150 degrés, puisque l'on sait que d'une façon générale la chaleur accélère les réactions en fonction même de son élévation ?

Parmi toutes les hypothèses formulables, nous proposerons celle-ci qui est loin, d'ailleurs, de nous satisfaire entièrement : on peut admettre que ce composé ne perd que peu à peu la qualité activante, en passant par des formes chimiques de fragilité diverse vis-à-vis de l'oxygène. Les premières oxydations se trouvant être en même temps les moins faciles à obtenir, s'effectueraient rapidement vers 165 degrés, tandis qu'à température ordinaire, elles demanderaient une période beaucoup plus longue. C'est ce qui expliquerait, d'une part la résistance immédiate de ce corps, et, d'autre part, sa destruction ultérieure.

**Quantités minimum, optimum et nocives
du facteur
agissant sur la croissance des végétaux inférieurs**

Avant d'exposer les quantités pondérables minima nécessaires à toute activité de la part d'une solution de Mayer ayant eu pour hôte le *Mucor Mucedo*, disons de suite que des doses massives ou même des concentrations au bain-marie allant jusqu'au cinquantième de ces cultures, n'ont, ni plus ni moins, d'action, l'activité se présentant dans toutes ces circonstances avec un taux sensiblement constant.

Par contre, l'addition du corps lui-même à l'état pur perd lorsqu'il est adjoint en concentration aussi élevée la qualité activante, et devient nocif. Funk observa des faits analogues en se servant de la matière cristallisée obtenue par traitement de la cuticule de riz, administrée à ses sujets d'expérience.

Ce point reste, à l'heure actuelle, un peu obscur, car on s'explique mal pourquoi, à solution égale, cette substance ne nous a pas offert, dans les deux cas, des réactions identiques.

Nous avons pensé, un moment, connaissant le caractère acidophile des êtres sur lesquels nous expérimentions, que l'acidité des cultures additionnées au milieu neuf était la cause de cet effet bienfaisant, mais avons été convaincu du contraire, n'ayant pu constater aucune différence entre l'adjonction de culture strictement neutralisée ou non. Inversement, d'ailleurs, des doses équivalentes de divers acides

organiques chimiquement purs n'amènèrent pas d'amélioration, bien au contraire.

De l'influence des doses massives, passons à l'extrême inverse.

Disons de suite que la quantité minimum utile est de l'ordre du milligramme ; mais ici nous allons être forcés d'anticiper sur la marche même de ces recherches, car l'on conçoit aisément qu'en donnant des chiffres se rapportant aux masses de cultures employées comme accélératrices, nous englobons dans ceux-ci des poids de matières n'ayant aucun rôle utile en l'occurrence. Les chiffres suivants pèchent donc par excès. Ils sont exacts si nous cherchons à établir un rapport, ils sont faux si nous voulons connaître le pourcentage minimum juste nécessaire pour qu'il y ait activité.

L'emploi à l'état pur du corps organique doué de ce pouvoir était le seul moyen d'être véritablement fixé à cet égard, nous ne ferons ici que mentionner des nombres, renvoyant aux pages 89 et 90 pour son mode d'extraction et sa purification.

TABLEAU XI : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

I. — RECHERCHE DE LA PLUS PETITE QUANTITÉ D'UNE CULTURE DONNÉE
UTILE AU PHÉNOMÈNE D'ACTIVITÉ

	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc.		Numération
		à l'état sec en mgr.	par rapport au témoin en mgr.	
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	0°975	13		16
B. Liquide de MAYER + 0 c.c. 4 o/o d'une culture bacillaire "				
B de 20 jours	3°301	50	+ 37	97
C. Liquide de MAYER + 0 c.c. 3 o/o d'une culture de M. Mucedo de 16 jours	4°500	61	+ 48	125
D. Liquide de MAYER + 0 c.c. 2 o/o de B	3°200	48	+ 35	107
E. Liquide de MAYER + 0 c.c. 2 o/o d'une culture de <i>Mucor Mucedo</i> (16 jours)	4°407	60	+ 47	110

PLANCHE I

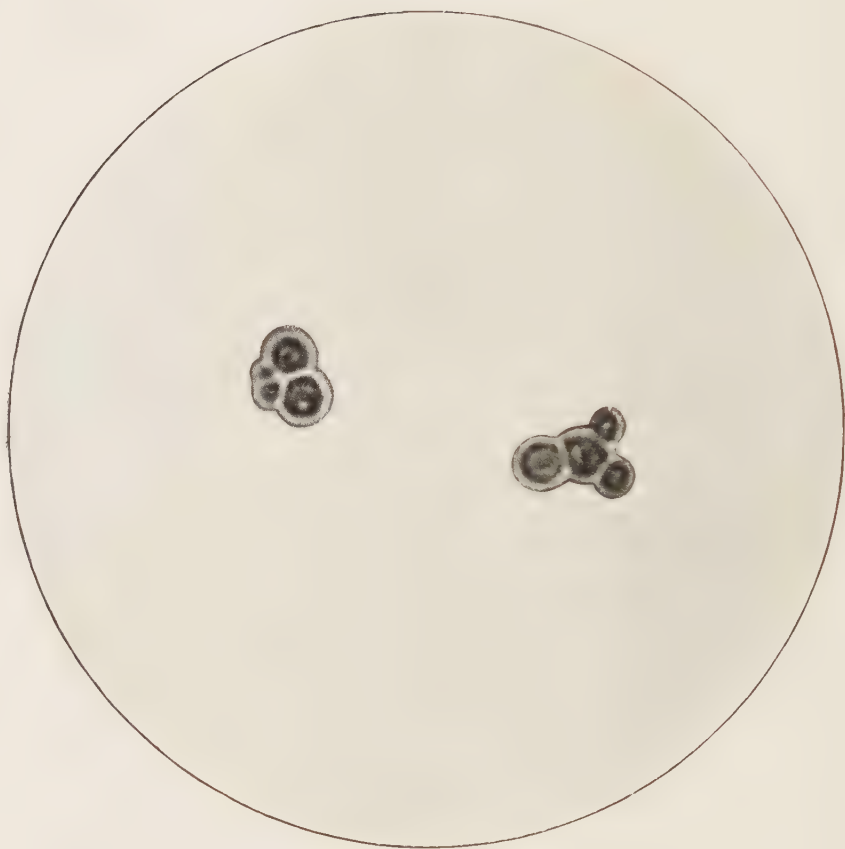


FIG. 2. — Aspect d'une culture, en tube, de *saccharomyces cerevisiæ* âgée de 66 heures (milieu : liquide de MAYER).

PLANCHE II

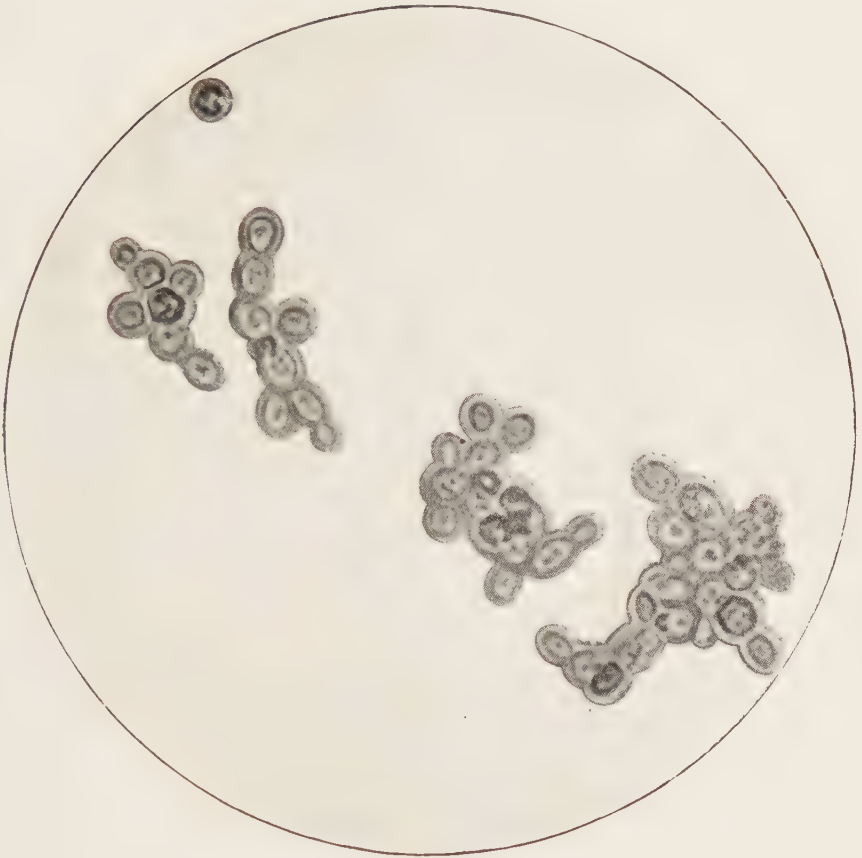


FIG. 2. — Aspect d'une culture, en tube, de *saccharomyces cerevisiae* âgée de 60 heures (milieu : liquide de MAYER additionné de 0 gr. 0016 0 0 de facteur accessoire, extrait d'une culture de *Mucor Mucedo*).

TABLEAU XI (suite) : Culture de *S.cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

II. — RECHERCHES DU PLUS PETIT POIDS DE MATIÈRE ACTIVANTE A L'ÉTAT PUR
NÉCESSAIRE POUR MANIFESTATION D'ACTIVITÉ

	Alcool 0/0 —	Poids de végétal par 100 cc. par rapport à l'étal sec — au — témoin — en mgr. en mgr.		Numération —
		à l'étal sec — en mgr.	par rapport au témoin — en mgr.	
1. Liquide de MAYER, témoin.	1°300	15		16
2. Liquide de MAYER + 0 mg. 2 matière accélératrice pour 50 c.c.....	2°010	18	+ 3	19
3. Liquide de MAYER + 0 mg. 41 matière accélératrice pour 50 c.c.....	1°902	17	+ 2	17
4. Liquide de MAYER + 0 mg. 83 matière accélératrice pour 50 c.c.....	3°200	47	+ 32	89

En possession de tels chiffres, nous voici capables d'établir quelques proportions.

C'est ainsi que l'influence de cette matière se fait sentir, et ceci avec son maximum d'effet (voir planche II) dès qu'elle se trouve additionnée à la solution minérale dans le rapport

$\frac{1}{64.704}$ soit 0 gr. 00083 pour 50 centimètres cubes de liquide, ou pour 53 gr. 775 de substratum.

D'autre part, cette fraction de milligramme représente la 1/458^e partie en poids des sels constitutifs du milieu et la 1/102^e partie du supplément de levure que l'influence de cette matière permet d'obtenir (ou la 1/137^e partie au cas de prolifération en large aérobiose).

Nous dirons de ces deux derniers chiffres ce qu'écrivait Duclaux à propos du quantum de zinc optimum nécessaire à la culture de l'*Aspergillus niger* en solution de Raulin : Ils mesurent l'utilité spécifique de ce corps pour la récolte.

Si l'on songe à la masse de cette matière perdue pour la

levure, puisqu'elle ne peut bénéficier, somme toute, que de la dilution qui lui est immédiatement contiguë, on est encore plus surpris de la dose infime capable de déclancher une action si considérable sur les cellules initiales au début de leur multiplication.

Connaissant en poids la fraction du composé organique utile pour qu'il y ait accélération, il nous est indifférent d'établir, comme nous avons pensé le faire, et comme l'ont tenté certains auteurs n'ayant pu isoler de substance pondérable, une sorte « d'indice de corps accélérateurs » ; la balance remplaçant ici avantageusement le concours de facteurs qui auraient pu nous servir à le constituer, et dont on ne perçoit que trop aisément la valeur relative. Le tableau de la page 92 offre quelque intérêt à cet égard.

Condition nécessaire
pour que les molécules organiques accélératrices
révèlent leur pouvoir

Nous avons jusqu'à présent, cherché dans le problème qui nous occupe, les points communs, les analogies, en un mot toutes les ressemblances que pouvait présenter l'action physiologique des facteurs accessoires de la croissance chez les animaux avec les accélérations de prolifération qui viennent de nous surprendre parmi les infiniment petits.

Le parallélisme des deux actions avait été si frappant que par moment il eût été tentant de conclure à un même processus qui ne semblait varier au fond que par son caractère non obligatoire dans le monde monocellulaire, contrairement à ce qui se passe d'habitude chez les animaux supérieurs, où la question revêt alors une forme strictement nécessaire. Nous allons pourtant toucher du doigt le point sensible de ce parallélisme, peut-être un peu trop objectif, et le mettre en tous les cas momentanément en défaut.

On se rappelle qu'un des caractères essentiels des corps appelés vitamines, caractère qui, à n'en pas douter, eut une grande part dans la révélation de ces composés organiques, est leur fragilité vis-à-vis de certaines températures relativement basses, ne dépassant pas 120-125 degrés, assure la majorité des auteurs. Températures qui rendaient néanmoins les avitaminoses la plupart du temps, des cas expérimentaux

provoqués par l'homme, et ainsi fort peu rencontrées dans la nature (1).

Or, par un retour bien curieux des choses, c'est précisément l'inverse qui se passe parmi les petits êtres dont nous nous occupons ici ; leur vie à l'abri des vitamines — terme générique que nous n'aimons pas à cause précisément du caractère obligatoire qu'il implique — serait la règle générale, le bienfait de ces corps n'apparaissant, on le verra tout à l'heure, que comme une résultante des recherches de laboratoire, et par définition en dehors de leur mode de vie habituel.

Voici les faits :

Reprenons quelques expériences citées ici : celles de l'influence de diverses cultures bactériennes adjointes au liquide de Mayer, le tout stérilisé 5 minutes à 110 degrés avant ensemencement. Mettons en regard les résultats obtenus par des milieux semblablement constitués, mais n'étant pas passés par l'autoclave et simplement chauffés par tyndallisation (3 fois 20 minutes à 70 degrés, et à 24 heures de distance, au bain-marie) :

Fait paradoxal, les cultures microbiennes non autoclavées ne sont pas activantes.

Des expériences de symbiose, bacille plus levure, ou des adjonctions de culture simplement filtrées sur bougie Chamberland n'ayant pas donné de meilleurs résultats, aucun doute possible ne sembla être permis à cet égard ; il était dorénavant nécessaire de compter dans nos recherches sur une température voisine de celle du point d'ébullition de l'eau pour que la présence et l'utilité du facteur actif soient mises en évidence (2) *et ceci dit, quelle que soit l'espèce microbienne l'ayant engendré.*

(1) Les accidents provoqués par le riz décortiqué étant aussi dûs au travail de l'homme, nous les considérons également, comme des faits expérimentaux.

(2) Résultats aussi positifs quand on se sert de cultures autoclavées avant leur adjonction au milieu minéral neuf.

TABLEAU XII : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

I. — LES CULTURES BACTÉRIENNES TYNDALLISÉES N'ONT PAS D'ACTION, PAR CONTRE LES CULTURES PORTÉES A L'AUTOCLAVE SONT ACTIVANTES.

		Acide total en SO_4H^2	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc.		Numé- ration
				à l'état sec	par rapport au témoin	
A.	Liquide de MAYER, <i>témoin</i>	0 040	0°600	10		8
B.	Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 tynd.	0 048	0°800	16	+ 6	14
	d'une culture de P^2	0 208	2°368	48	+ 38	112
C.	Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 tynd.	0 096	0°750	15	+ 5	13
	d'une culture de M^1	0 104	3°553	62	+ 52	139
D.	Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 tynd.	0 086	0°885	16	+ 6	16
	d'une culture de S. M.	0 224	7°454	73	+ 63	142
E.	Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 tynd.	0 095	0°900	17	+ 7	17
	d'une culture de C.	0 328	3°469	61	+ 51	128

Pour expliquer un tel phénomène, 3 hypothèses s'offraient immédiatement à nous :

1° La chaleur pouvait volatiliser quelques corps toxiques moins résistants que la matière organique active et qui neutralisait cette dernière par action inverse avant ébullition.

2° La chaleur pouvait encore détruire *in situ* un ou des corps semblable à ceux utilisés en sérologie (pro-ferment bactériolysine, etc...), destructible entre 60 et 100 degrés ordinairement, et d'action non équivoque sur le processus de certaines réactions biologiques.

3° Enfin, la chaleur pouvait agir sur la nature chimique du composé lui-même.

Or, ni l'emploi des premiers passages d'une distillation fractionnée, ni l'utilisation des eaux de lavages ayant servi à purifier la matière organique active ne se sont montrés nocifs ou modifiés par la chaleur. La troisième hypothèse prenait donc d'autant plus de force que le corps organique actif extrait à l'état pur et cristallisé avait besoin lui-même

d'être porté vers 85-90 degrés pour acquérir la qualité accélératrice. (1)

Ceci posé, nous renverrons, afin de ne pas trop anticiper et d'éviter certaines redites, aux pages 94 et 95, où l'on trouvera l'exposé des expériences et quelques chiffres à ce sujet.

A vrai dire, cette nécessité de chauffage est le seul point litigieux que nous ayons rencontré au cours du parallélisme tracé entre les effets causés par cette matière et la substance B. Nous allons à nouveau trouver toute une série de faits dans le comportement de cette substance, qui vont renforcer singulièrement l'analogie déjà esquissée. Mais une des premières déductions que doit entraîner la connaissance d'un besoin de chauffage préalable, est l'impossibilité d'auto-accélération par ce moyen de la croissance des êtres producteurs de ces corps. Ceci n'équivaut-il pas, quant au résultat, à l'absence de pareille synthèse pour les générateurs? Les animaux supérieurs en sont réduits là également.

(1) Nous verrons tout à l'heure réapparaître l'esprit de la deuxième supposition (page 114), aussi est-il permis de conserver quelques doutes à ce sujet.

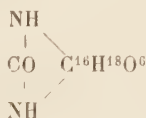
Technique

permettant d'obtenir la substance accélératrice à l'état pur et cristallisable

Qu'est-ce que ces facteurs accessoires ? De quelle nature chimique sont-ils ? Si nous consultons les principaux travaux publiés à ce sujet, les noms de tryptophane, lysine, arginine, histidine, reviennent à chaque instant aux yeux du lecteur. Ces amino-acides seraient-ils donc, en définitive, les corps tant cherchés ?

Pour les uns, la question ne fait aucun doute, quoique non démontrée ; pour les autres, il ne peut s'agir de telles individualités.

Seul, Casimir Funk, en 1912, donna la formule d'une substance qu'il obtint par extraction alcoolique du son de riz, laquelle, précipitée par du nitrate d'argent et fractionnée au moyen d'acide phosphotungstique, passa un moment pour être la matière recherchée ; d'après cet auteur, il faudrait écrire sa formule de la façon suivante :



laquelle semble appartenir aux bases pyrimidiques.

Malheureusement, elle ne put être maintenue à la suite de travaux postérieurs.

Nous avons, pendant un certain temps, porté nos efforts sur cette question d'acides aminés, pensant suivre le bon chemin, quand nous nous sommes aperçu :

1° — Que la richesse en ces corps ne variait pas plus d'une culture à une autre, qu'entre des milieux ayant hébergé le *Mucor Mucedo* ou le *Penicillium glaucum*.

2° — Que des extractions de culture faites à l'éther ne renfermaient pas trace d'amino-acides.

3° — Que, contrairement à toute attente, l'acide phosphotungstique donnait lieu à un précipité blanc d'acides aminés lorsqu'il était employé avec de jeunes cultures de *P. glaucum*, inactives encore.

Enfin, nous étant peu à peu rendu compte, par certains autres indices, que nous faisions fausse route, il nous a semblé plus sûr de faire table rase des quelques données acquises antérieurement, quitte à reprendre le problème du début et sur de nouveaux plans.

Après de nombreux essais et tâtonnements, dont les détails manquent d'intérêt, nous réussîmes à extraire des cultures de mucor, exécutées en liquide de Mayer, une matière cristallisable offrant, comme on le verra plus loin, tous les caractères de l'espèce cherchée.

Voici l'ordre dans lequel nous avons opéré.

Méthode d'extraction et de purification du composé organique actif.

On sait que les facteurs accessoires sont solubles dans l'alcool, on sait également que ce dernier ne les détruit pas, nous nous sommes donc servi en premier lieu de ce solvant pour les recueillir, mais l'expérience nous apprend qu'il pouvait être avantageusement remplacé par l'éther sulfurique à 65 degrés : aussi, avons-nous employé celui-ci de préférence à

celui-là pour une raison de technique que nous exposerons plus loin.

Voici la marche à suivre pour obtenir ce corps à l'état pur :

I. — 250 à 300 centimètres cubes de liquide de Mayer saccharosé à 6 0/0 dans lequel végéta pendant une quinzaine de jours environ à 27 degrés C. le *Mucor Mucedo*, sont versés dans une capsule de porcelaine jaugeant 700 centimètres cubes, avec un peu de sable de Fontainebleau (30 grammes à peu près), le tout placé sur un bain-marie bouillant, mais en s'arrangeant pour que le liquide traité ne dépasse pas 80-82 degrés. (Ceci dit en vue du contrôle : voir à ce sujet page 95, paragraphe 5).

L'évaporation de cette culture doit être conduite jusqu'à état sirupeux, sans outrepasser une telle concentration.

II. — Une fois la capsule refroidie, l'extraction proprement dite a lieu au moyen de quelques décimètres cubes d'éther — 125 centimètres cubes environ et en tout pour 300 centimètres cubes de culture — chaque épuisement se fait à l'aide d'un gros agitateur de verre, ou d'une spatule de platine agitée vigoureusement, et 10 à 15 centimètres cubes de solvant.

Ceci, 8 à 10 fois consécutivement.

L'extraction peut être considérée comme achevée quand les dernières fractions d'éther ne se colorent plus.

III. — Ces extraits éthérés sont recueillis au fur et à mesure dans un tube à essais ou un petit ballon de verre mince en se gardant :

- a) de filtrer sur papier, celui-ci retenant le corps cherché ;
- b) de faire entrer dans le récipient autre chose que l'éther.

IV. — Plonger dans un bain-marie à 45 degrés environ les 2/3 du ballon ou du tube, et attendre que l'ébullition du contenu se soit arrêtée. On doit constater :

a) une coloration de plus en plus foncée de l'extrait due à la concentration progressive des principes colorants dissous.

b) un arrêt d'ébullition au-dessus du point normal de l'éther, celui-ci s'en écartant d'autant plus que l'extrait est plus riche en corps cherché.

Il est même nécessaire parfois d'élever au-dessus de 50 degrés la température du bain-marie pour chasser les dernières portions d'éther et faciliter la cristallisation.

V. — Laisser refroidir complètement le bain-marie ; si la culture traitée était activante, le composé lui conférant un tel pouvoir doit commencer à se précipiter tout d'abord le long des parois du récipient puis au fond même de celui-ci, formant dépôt baignant dans un liquide d'aspect plus ou moins huileux.

VI. — La purification de cette matière peut se faire ainsi :

a) On commence par rassembler à l'aide de la spatule tout le précipité dans une capsule de porcelaine de petit modèle ;

b) Au moyen d'une pipette effilée, on le débarrasse du liquide le baignant ;

c) On le lave ensuite à l'eau distillée froide à plusieurs reprises, sans chercher à le dissoudre ;

d) Placé dans de l'alcool absolu, il y est dissous et reprécipité par évaporation lente ;

e) Placé dans de l'éther, il y subit un traitement analogue ;

f) Lavage à nouveau à l'eau distillée froide sans dissolution ;

g) Séchage à l'étuve vers 30 degrés centigrades.

Il est bon que nous ouvrons ici une parenthèse au sujet des conditions dans lesquelles doit s'effectuer la précipitation, car celle-ci fit, à plusieurs reprises, totalement défaut, quoique les modes de culture et d'extraction n'aient subi

aucune modification, et malgré l'adjonction de cristaux bien formés, précédemment obtenus.

On peut attribuer cette anomalie à plusieurs causes, que nous résumerons tout d'abord en disant qu'une telle précipitation ne doit s'effectuer que dans des conditions déterminées, l'une d'elles vient-elle à manquer ou se produire à contre-temps ? Et voici la substance activante impossible à isoler, restant à jamais dissoute, mélangée à tous les autres composés liquides extraits avec elle, et sans espoir de cristallisation ultérieure.

Parmi les facteurs concourant à une bonne précipitation, nous signalerons :

Une évaporation lente et continue du solvant, condition bien remplie par l'éther (c'est sans doute la manière la plus sûre de s'y prendre, quoique un peu lente quand elle s'effectue entièrement à température ordinaire).

Sa tranquillité durant cette opération, un certain degré de concentration qu'il est peut-être nécessaire de ne pas dépasser et qui doit certainement coïncider avec un minimum de matière précipitable.

Parfois, un repos prolongé n'excédant pas 24 heures généralement, et à température ordinaire (15 degrés).

Nous avons conscience, malgré toutes ces remarques, d'en omettre, et peut-être de capitales, mais qui nous ont échappé jusqu'à présent. Il se pourrait qu'il y en eût d'autres d'un ordre différent, inhérents à la composition même du milieu, comme, par exemple, certaines substances inhibitrices à l'état de traces dont la présence ne put se révéler à nos yeux. Quoi qu'il en soit, nous ne saurions être surpris de la multiplicité et de la délicatesse des contingences présidant à une telle transformation physique sachant combien certains corps organiques sont de cristallisation difficile.

Il est superflu d'ajouter que l'extract éthéré qui, accidentellement, ne cristallise pas, agit néanmoins sur l'évolution des saccharomyces ; toutefois, son action est moins accen-

tuée, nous attribuons cela à la présence de corps nocifs, qui, fatalement, l'accompagnent (voir tableaux XIV-IV).

Vu au microscope, la seule chose nous ayant frappé dans ces extraits est la présence de cristaux en rosace, rappelant un peu ceux de l'iodoforme. Est-ce une forme « embryonnaire » de la cristallisation manquée, ou bien serait-ce précisément — ce qui est peu probable — la raison même de la non-précipitation ?

Voici quelques poids de matière organique active obtenus au cours de diverses extractions : le *Mucor Mucedo* en étant partout le générateur.

TABLEAU XIII

Conditions dans lesquel les furent effectuées les cultures traitées	Richesse	Age des cultures à l'origine	Poids du mucor à l'état sec	Poids de la matière activante extraite		
	en			totale	par cc. de culture	
	saccharose				par cc.	par mgr.
	des cultures à l'origine					
	en gr. b/o	en jours	en grammes	en milligr.	en milligr.	en milligr.
325 c.c. Liquide de MAYER	6 o/o	21	1 700	15	0 046	0 008
200 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	6 o/o	14	0 700	40	0 200	0 071
170 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	6 o/o	12	0 580	55	0 323	0 094
400 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	1 o/o	13	1 105	traces		
400 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	6 o/o	13	2 655	20	0 050	0 007
200 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	6 o/o	11	1 060	60	0 300	0 056
170 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	6 o/o	14	0 585	0		
400 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	10 o/o	16	0 620	0		
400 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	6 o/o	16	3 015	50	0 125	0 016
400 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	10 o/o	12	2 545	25	0 062	0 009
250 c.c. Liquide de MAYER modifié par CON ² H ⁴	5 o/o glucose	14	0 762	45	0 180	0 057
225 c.c. Bouillon de tou- raillon	5 o/o	17	0 590	70	0 280	0 118

Cette matière nous apparaît, une fois purifiée, lavée et séchée, sous forme de poudre fine, d'une couleur blanche-jaune clair sans odeur propre.

Vu au microscope et à fort grossissement, ce précipité, pris tel quel, se présente sous l'état amorphe, tandis que, dissous dans l'eau, puis évaporé rapidement sur lamé, il apparaît cristallisé, et d'aspect arborescent, rappelant beaucoup certaines feuilles de fougère (voir planche III).

Avec le spath fluor, sa polarisation va croissant jusqu'à 90 degrés.

Ces cristaux sont difficilement solubles dans l'eau froide, un peu plus rapidement dans l'eau à 35 degrés, et très facilement dans l'eau bouillante ; cette dernière, une fois refroidie, n'engendre pas leur reprécipitation.

Ils sont solubles, à température ordinaire, dans l'éther sulfurique, l'alcool absolu, l'ammoniaque et l'acétone du bisulfite.

Notre substance, déposée sur un bloc Maquenne, se sublime vers 170 degrés, tandis que, placée dans la flamme d'un bec Bunsen, elle laisse sur la spatule de platine des traces noires de carbone, sans aucune cendre.

Si nous passons à l'examen de la partie liquide, eau-mère de la substance précédemment décrite, celle-ci nous apparaît comme peu mobile, à odeur forte, mais non caractérisée, ne contenant pas d'azote, mais, par contre, réduisant faiblement la solution cupro-potassique.

Nous n'attacherions aucune importance à cette deuxième partie, si ce n'était le fait qu'elle s'est montrée parfois (1) douée d'un peu d'activité. Cette anomalie doit être attribuée à la présence de matière active encore non précipitée, car il n'y a pas, en effet, de raison pour que celle-ci se fasse toujours entièrement. On l'en débarrassera à coup sûr, nous nous en sommes assurés, par un ou deux passages successifs à travers un filtre Berzelius.

(1) 3 fois sur 13 essais.

TABLEAU XIV : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENTEMENT

	Ac ⁱ de total en SO ₄ H ² — en gr.	Alcool 0/0	Poids de végétal par 100 cc. par rapport à l'état sec		Nume- ration —
			à l'état sec en mgr.	au témoin en mgr.	
I. — LES CULTURES TRAITÉES PAR L'ÉTHÉR NE POSSÈDENT PLUS LE POUVOIR ACTIVANT QU'ELLES AVAIENT PRIMITI- VEMENT.					
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i>	0 048	1°600	17		14
B. Liquide de MAYER + 0 gr. 5 o/o d'un résidu de culture bactérienne traitée par l'éther	0 016	1 787	19	+ 2	16
C. Liquide de MAYER + 0 gr. 5 o/o d'un résidu de culture de <i>M. Mucedo</i> traitée par l'éther	0 064	1°835	19	+ 2	17
II. — LE LIQUIDE BAINANT LE PRÉCIPITÉ EST DÉPOURVU D'AC- TIVITÉ, CE DERNIER SEUL EST ACTIF.					
1. Liquide de MAYER + 0 c.c. 5 de liquide dans lequel s'est formé le précipité actif....	0 080	1°762	18	+ 1	16
2. Liquide de MAYER + 2 mg. de précipité	0 112	4°269	62	+ 45	120
III. — LA MATIÈRE ACTIVANTE NE MANIFESTE SON POUVOIR QU'A LA CONDITION D'AVOIR ÉTÉ CHAUFFÉE PRÉALABLEMENT A 85-90° MINIMUM.					
A Liquide de MAYER + solution matière activante tyndallisée 3 fois 10 minutes à 70°....	0 040	1°100	19	+ 2	22
B. Liquide de MAYER + même solution que A portée à 100°	0 114	4°361	63	+ 46	124
IV. — ACTION D'EXTRAIT ÉTHÉ- RÉ N'AYANT PU FOURNIR DE MATIÈRE ORGANIQUE ACTIVE PAR PRÉCIPITATION.					
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	0 119	6°322	38		97
2. Liquide de MAYER + 6 mg. o/o d'extrait	0 127	7°835	49	+ 11	121

*
* *

Il était nécessaire d'établir, pour avoir l'assurance que ces cristaux ainsi obtenus constituent véritablement la substance activante, et la seule, toute une série d'épreuves sans lesquelles un doute fût permis.

Il fallait :

1° Que les cultures traitées par l'éther ne présentent plus d'activité vis-à-vis de milieux neufs ;

2° Que le liquide huileux baignant le précipité reste également inactif ;

3° Que le précipité en question seul possède ce pouvoir ;

4° Que son activité se manifeste dès qu'il est adjoinct en proportions analogues, à celles où il se trouve normalement dans les cultures de mucor ;

5° Qu'enfin, ce pouvoir accélérateur ne puisse se dévoiler, qu'une fois le corps chauffé vers 85-90 degrés.

Les expériences suivantes vont répondre affirmativement et point par point à ces cinq paragraphes. (Voir tableau XIV).

PLANCHE III



FIG. 3. — Cristaux de matière organique accélérant la croissance des végétaux inférieurs et extrait de culture de *Mucor Mucedo* (grossissement : 670 diamètres).



FIG. 4. — Mêmes cristaux que ceux donnés par la figure 3, mais vus à un grossissement supérieur.

L'action de molécules organiques, accélérant la croissance des microorganismes, ne peut être confondue avec les phénomènes similaires causés par divers minéraux.

Depuis le début de ces recherches, aucune espèce de cellule ne nous donna, au moins pendant un court instant de son évolution, la preuve tangible de sa sensibilité à un corps accélérateur de la croissance, et inversement, parmi tous les individus étudiés ici pas un ne nous en fournit au moins assez pour qu'un doute puisse s'élever au sujet de son universalité. Ce corps n'apparaissant qu'avec la vie, et avec elle seulement, il nous a semblé utile de réfuter une objection courante faite par certains sceptiques : en additionnant les solutions minérales de quelques parcelles organiques (tourbe, touraillon, etc...), celles-ci, disent ces derniers, reçoivent, outre celles-là, des minéraux, sans doute utiles à faible dose, mais auxquels on devrait attribuer les accélérations que nous avons constatées.

Il nous suffirait, pour détruire toute conception analogue, de rappeler que le liquide de Mayer, où a végété une espèce bactérienne quelconque, est actif vis-à-vis de la levure cultivée en ce même milieu, et réciproquement.

A l'appui de cet argument, nous citerons les chiffres que donne l'adjonction des cendres de divers activants. Ceux-ci, comme on devait s'y attendre, n'ont pu qu'infirmier l'hypothèse du rôle joué par certains minéraux.

TABLEAU XV : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

	Acide total en SO_4H^2 — en gr.	Alcool 0/0 — en mgr.	Poids de végétal par 100 cc. — à l'état sec — en mgr.		par rapport au témoin — en mgr.	Numé- ratio —
I. — LA TOURBE ENSEMENCÉE,						
LE TOURAILLON, LES LEVURES						
ONT UNE ACTION MARQUÉE SUR						
LA PROLIFÉRATION DE CES DER-						
NIÈRES, LEURS CENDRES N'EN						
ONT AUCUNE.						
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	0°072	1°604	19	.		30
2. Liquide de MAYER + tourbe bactérisée	0 120	2°901	68	+ 49		116
3. Liquide de MAYER + cendres de tourbe bactérisée	0 077	1°786	20	+ 1		28
4. Liquide de MAYER + tourail- lon	0 147	5°901	69	+ 50		130
5. Liquide de MAYER + cendres de touraillon	0 073	1°705	21	+ 2		29
6. Liquide de MAYER + levures mortes	0 147	4°909	70	+ 51		119
7. Liquide de MAYER + cendres de levures	0 077	1°705	21	+ 2		25

Dans un ordre d'idée analogue, nous avons cherché à nous rendre compte de l'influence de quelques minéraux et composés organiques connus sur la vitesse de prolifération des levures.

On sait, en effet, que le phosphore, le manganèse, l'hordéine, l'acide pyruvique, pour n'en citer que quelques-uns, possèdent à des degrés divers le pouvoir d'accélérer les phénomènes vitaux ; ces expériences, menées comparativement à d'autres effectuées avec un peu d'extrait de culture de mucor, ne purent en aucun cas soutenir de comparaisons, les premières restant toujours nettement inférieures à celles tentées simultanément.

* *

Rappelons-nous, d'autre part, l'opinion généralement admise quant à l'origine des corps organiques actifs étudiés jusqu'à ce jour. Pour beaucoup, c'est une ou quelques molécules constitutives de l'édifice moléculaire si compliqué des protéiques, que l'on doit incriminer, ce sont à des acides aminés, avons-nous déjà dit, que bien des expérimentateurs attribuèrent la fonction encore si obscure de ces composés.

Avouons, pour notre part, que, loin d'être hostile à cette hypothèse, nous la considérons de prime abord d'autant plus volontiers comme vraisemblable, qu'une autophagie de levure, véritable dégradation de matières albuminoïdes, se révéla à nos yeux fort riche en ces corps.

Qu'allait donc nous donner le blanc d'œuf, type de la matière albuminoïde, mais dépourvu de toute organisation cellulaire ? On sait qu'une telle substance ne peut être regardée comme alimentaire pour les levures : « J'ai été surpris — dit Pasteur — de trouver cette matière tout à fait impropre à nourrir les globules de levure de bière », et l'illustre savant ajoute qu'ayant ensemencé ces organismes dans de l'albumine d'œuf frais et sucré, il ne put constater aucun développement, aucune trace de fermentation.

Si ces êtres inférieurs ne peuvent attaquer, et en conséquence dégrader cette substance, à plus forte raison ne peuvent-ils tirer partie de quelques éléments constitutifs d'un tout resté cohérent en leur présence.

Voici, pourtant, les résultats immédiats donnés par l'albumine d'œuf ajoutée, une fois coagulée, à une solution strictement minérale.

TABLEAU XVI : Cultures de *S. cerevisiæ*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

		Poids de végétal par 100 cc.		
	Alcool 0/0 —	à l'état sec — en mgr.	par rapport au témoin — en mgr.	Numé- ration —
I. — L'ALBUMINE D'ŒUF FRAIS N'A PAS D'ACTION SUR LE DÉVE- LOPPEMENT DES SACCHAROMY- CES, L'ALBUMINE D'ŒUF CUIT EN A UNE.				
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	1°814	16	—	28
B. Liquide de MAYER + blanc d'œuf cru	1°321	15	— 1	22
C. Liquide de MAYER + blanc d'œuf coagulé dans l'eau pure et ajouté au liquide de MAYER (moins l'eau de coa- gulation)	8°701	68	+ 52	132

Ne pouvons-nous qu'enregistrer le fait ? Non ; si laconique soit-il, quatre conclusions s'en dégagent néanmoins.

1° L'albumine d'œuf frais n'exerce aucune action sur le développement des saccharomyces ;

2° L'albumine d'œuf cuit se sépare lorsqu'elle est placée dans de l'eau pure, de molécules accélérant la construction du protoplasme levure ;

3° Ces molécules accélératrices ne révèlent leur pouvoir qu'une fois chauffées, tout comme celles dont nous nous sommes préoccupés jusqu'à présent ;

4° La formation de ces corps actifs semble être liée à la période anabolique des cellules qui les ont engendrés, ou, tout au moins, n'ont pas l'air de dériver directement d'une digestion cellulaire.

Action d'un facteur engendré par voie biologique sur la croissance de l'*Aspergillus Niger* cultivé en milieu de Raulin.

Passons maintenant à l'étude des phénomènes que peut présenter un organisme dont les besoins minéraux sont notoirement satisfaits et, par là même vivant et croissant dans des conditions optima, nous voulons parler de l'*Aspergillus niger*, qui ne semble souffrir en aucune manière du caractère strictement pur des constituants de son milieu d'élection.

C'est peut-être au cours des expériences suivantes que ces genres de « facteurs » révéleront avec le plus de force leur véritable rôle : jamais plus qu'ici, nous ne sentirons mieux la qualité de ces corps accessoires de la croissance, nulle part ailleurs ce terme, pensons-nous, ne se justifiera davantage.

Il est suffisamment prouvé, pour revenir sur ce sujet, que la solution type de Raulin est, pour la culture de l'*Aspergillus*, supérieure à n'importe quelle infusion végétale : « La végétation des mucédinées dans les milieux artificiels m'a donné des récoltes — dit ce savant — relativement plus fortes que celles que l'on obtient dans les milieux naturels. » Or, s'il est prouvé, comme nous le croyons, que ce végétal tire, malgré ces conditions, un avantage de certaines matières organiques, et en particulier de celle élaborée par les végétaux inférieurs, nous aurons donné une preuve de plus de la valeur de ces composés et mis irréfutablement en évidence un phénomène qui, mal interprété, avait peu frappé jusqu'alors.

Est-ce à dire que les fameuses recherches entreprises sur ce végétal se soient trouvées ici en défaut ? Assurément non, le milieu de Raulin reste et restera sans doute toujours un modèle du genre ; mais, si nous n'avons pu, en fin de compte, avoir des rendements supérieurs à ceux de Jules Raulin, il nous a été facile, par contre, d'accentuer très notablement la vitesse de prolifération de l'organisme qu'il étudia si attentivement.

Après quoi, rentrant en quelque sorte dans la légalité, grâce sans doute au couvert intégral des minéraux indispensables, les poids totaux de végétations récoltées dans l'un et l'autre cas ne s'écarteront pas sensiblement des résultats que nous fournirent des témoins dépourvus de tout facteur accessoire (eux-mêmes en harmonie avec ceux obtenus par l'auteur des Etudes Chimiques sur la Végétation).

En un mot, nous avons réussi à bonifier le milieu optimum de l'*Aspergillus niger*, et ceci, en lui ajoutant précisément ce que le célèbre biologiste lui refusait : un des corps organiques constitutifs des milieux naturels.

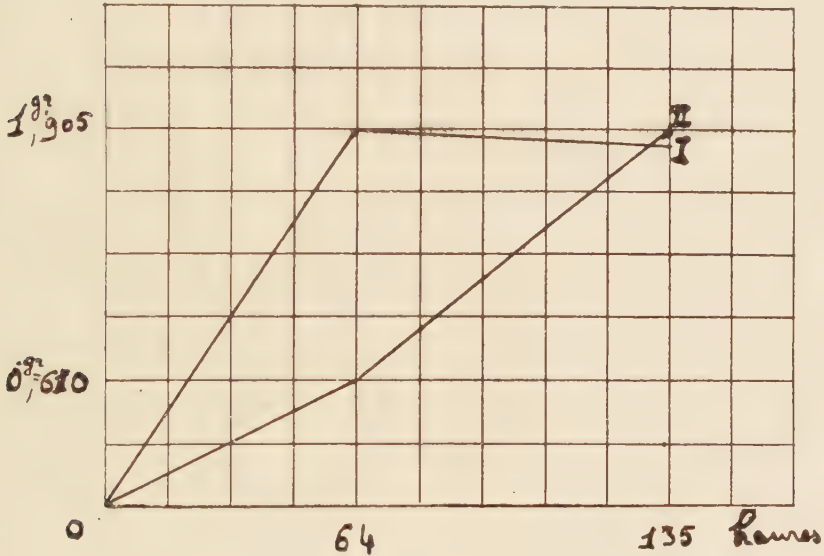
1°. — Les cultures d'*Aspergillus niger* peuvent être considérablement accélérées par la présence de certains corps organiques adjoints au milieu de RAULIN.

TABLEAU XVII

EXPÉRIENCES EXÉCUTÉES A 27°.

	Age des cultures au moment des pesées	Poids de végétal à l'état sec	Accroissement de poids par heure
		en gr.	en milligr.
I. — LES CULTURES SUIVANTES FURENT TOUTES ENSEMENCÉES D' <i>Aspergillus ni-</i> <i>ger</i> A L'AIDE DU FIL DE PLATINE.			
1. 100 c.c. de liquide de RAULIN, <i>témoin</i>	135 heures	1 905	14 111
2. 100 c.c. de liquide de RAULIN + 4 c.c. de liquide de MAYER ou proliféra pen- dant 15 jours le <i>Mucor Mucedo</i>	135 heures	1 885	13 962
3. 100 c.c. de liquide de RAULIN + 4 c.c. de liquide de MAYER stérile, <i>témoin</i> ..	64 heures	0 610	9 531

	Age des cultures au moment des pesées	l'oids de végétal à l'état sec — en gr.	Accroissement de poids par heure — en milligr.
4. 100 c.c. de liquide de RAULIN + 4 c.c. de liquide de MAYER où proliféra pen- dant 15 jours le <i>Mucor Mucedo</i>	64 heures	1 905	29 765
II. — LES RÉSULTATS SUIVANTS FURENT OBTENUS PAR L'ADJONCTION SEULEMENT D'EXTRACTION ÉTHÉRÉE D'UNE CULTURE DE MUCOR SUR LIQUIDE DE MAYER.			
A. 200 c.c. de liquide de RAULIN, <i>témoin</i>	3 jours	1 410	0 410
B. 200 c.c. de liquide de RAULIN + ex- traction étherée	3 jours	2 445	0 815



GRAPHIQUE IX

La courbe II traduit la marche de prolifération acquise par l'*Aspergillus niger* en milieu de RAULIN à 27 degrés C.

La courbe I traduit le même phénomène lorsque le milieu de RAULIN est additionné de facteur accessoire.

Pour Raulin, la masse de récolte fournie dans un temps donné par un même milieu ne peut varier qu'avec la température, l'état hygrométrique de l'atmosphère, le renouvellement de l'air ou la forme des vases. Comme nous n'avons changé aucune de ces conditions au cours des expérimentations précédentes, force nous est de conclure que cet organisme bénéficie d'un travail biologique précédent, gagnant en quelque sorte le temps qu'il eût mis à créer ces corps, si favorables à sa croissance.

A côté de cet accroissement de poids mycélien, l'étude histologique de ce *Sterigmatocystis* nous apprend que ses organes de reproduction (sterigmate et spores proprement dits) apparaissaient d'une façon plus précoce quand le milieu où il vivait avait été additionné au préalable de facteur accessoire. Remarque cadrant parfaitement avec ce que nous connaissons sur l'ensemble des transformations subies par un organisme en cours d'évolution.

Action du facteur accélérant la croissance sur l'assimilation des divers constituants d'un milieu minéral donné.

Grâce au minutieux travail auquel il vient d'être fait allusion dans les pages précédentes, nous étions avertis qu'en dehors du concours d'un nombre précis de certains éléments minéraux, la valeur de chacun d'eux était déterminée au moyen de rigoureux pourcentages. Si, poussant nos investigations jusqu'à modifier le quantum respectif des constituants d'un même milieu, du liquide de Mayer par exemple, quelques faits nouveaux se révèlent à l'observation.

1° L'augmentation progressive du sulfate de magnésie commence par favoriser la multiplication des cellules qui se trouvent confiées aux premières concentrations. Puis, si, dépassant une certaine dose optimum de ce sel, des saccharomyces sont placés vis-à-vis de concentrations plus élevées, mais non encore absolument toxiques, ils éprouvent, de ce fait, une sorte de gêne retardant leur prolifération sans influencer sur le poids total de végétal récolté, celui-ci étant finalement à peu près le même dans tous les cas pour une même quantité de saccharose assimilée. Seule, une question de temps intervient donc ici dans le phénomène.

Mais si, à des solutions identiques aux précédentes, nous ajoutons quelques fractions de corps accélérateurs, l'écart initial constaté entre les solutions hypo et hypertoniques, non seulement se comble, mais s'inverse dès les premiers jours de végétation ; nos cellules proliférant, alors beaucoup mieux

dans les solutions où précisément la concentration de $\text{SO}^4 \text{Mg}$ était une entrave à leur développement en l'absence de facteur accessoire.

2° Les doses de sulfate de magnésie donnant les meilleurs résultats ne se trouvent pas être les mêmes suivant que les individus peuvent disposer ou non de composés organiques actifs, et ceci dit alors sans préoccupation de temps, mais pour un même poids de carbone absorbé.

Le moins que nous puissions dire de telles constatations, c'est que le métabolisme en ces divers cas n'est pas identique. Faut-il ajouter que nous avons obtenu des résultats analogues avec le phosphate de potasse, et s'il en est ainsi de ces quatre éléments, il n'y a certes aucune raison pour qu'il n'en soit pas de même des autres minéraux constituant la matière vivante. Ces facteurs ont donc sur le rôle des substances alimentaires minérales un pouvoir des plus importants nul doute qu'à ce sujet il n'en soit de même vis-à-vis des organismes inférieurs en général.

Il n'est pas déraisonnable de penser qu'une telle action peut également se faire sentir au sujet de l'assimilation des graisses, matières albuminoïdes ou autres composés organiques, soigneusement purifiés, ce qui expliquerait dans une certaine mesure bien des échecs subis dans l'emploi de ces matériaux comme substance alimentaire.

Certains auteurs ayant pensé qu'un rapprochement pouvait s'effectuer avantageusement entre ces accélérateurs et certains lipoides protoplasmiques, auxquels Overton, et plus tard R. Höbert, attribuèrent un rôle prépondérant dans la dialyse des corps dissous à travers la membrane cellulaire ; il est à croire qu'une telle manière de voir est erronée, car on s'expliquerait mal à la lumière de ces faits le rôle bien-faisant de composés organiques, si leur fonction ne consistait qu'à accroître une perméabilité plutôt néfaste, et contre laquelle doit lutter au contraire, dans une certaine mesure, l'être vivant pour ne pas succomber.

TABLEAU XVIII

I. — LA CONCENTRATION DE CERTAINS SELS AGIT SUR LE DÉVELOPPEMENT DES LEVURES, MAIS CELLES-CI, A SOLUTIONS ÉGALES, NE RÉAGISSENT PAS DE LA MÊME MANIÈRE, SUIVANT QU'ELLES SE TROUVENT OU NON EN PRÉSENCE DE FACTEUR ACCESSOIRE.

	Richesse en SO ₄ Mg	Age des cultures analysées	Alcool 0/0	Facteur access- soire	Poids de végétal à l'état sec par 100 c.c.	Numé- ration
	—	—	—	—	—	—
en milligr.						
A. Action du temps sur la marche du phéno- mène.						
1. Liquide de MAYER +	{ 1 000 0/0 1 000 0/0	5 jours 5 jours	0 700 4 710	— +	13 68	21 97
2. Liquide de MAYER +	{ 2 000 0/0 2 000 0/0	7 jours 7 jours	2 101 5 809	— +	35 63	70 91
3. Liquide de MAYER +	{ 2 500 0/0 2 500 0/0	7 jours 7 jours	1 002 7 101	— +	15 69	19 108
B. Rapport entre les poids de sucre disparu et de levure trouvée.						
1. Liquide de MAYER +	2 248 0/0	10 jours	5 881	—	40	89
2. Liquide de MAYER +	2 500 0/0	7 jours	7 202	+	54	94

Nous avons vu, tout à l'heure, ce qu'il advenait des levures quand on fait varier la teneur des constituants minéraux de leur milieu de culture. Il était intéressant de savoir si, vis-à-vis du carbone, du saccharose, en solution concentrée, ces êtres réagissaient de la même manière.

On sait que, d'une façon générale, les levures proliférant au sein d'une forte solution de sucre, ne transforment pas entièrement ce dernier, les milieux saccharosés à 25 0/0, par exemple, accusent couramment, en fin de fermentation, 3 à 5 0/0 d'hydrate de carbone non utilisé. Nous avons donc cru utile d'établir 2 genres d'expériences ; l'une ayant pour objet de nous renseigner sur l'allure que prennent respectivement au début deux fermentations en milieu minéral, de richesse saccharine égale, mais élevée, additionnées ou

non de facteurs accessoires de la croissance ; l'autre, devant nous éclairer sur les poids de végétal, de sucre et d'alcool trouvés, cette seconde expérience étant exécutée dans des conditions analogues à la première.

Deux faits, aussi nouveaux qu'inattendus, nous surprirent.

Premièrement : Aucune différence ne se manifesta au début entre les marches de prolifération en milieu saccharosé à 25 0/0, malgré l'adjonction à la moitié des fermentations de facteurs accessoires, autrement dit, l'accélération causée ordinairement par ces derniers, fut également constatée dans les témoins que nous supposons dépourvus de tels composés ; d'où conclusion logique : le sucre de betterave ordinaire apporte, outre les molécules de saccharose sciemment adjointes, des corps identiques ou différents des facteurs de la croissance, mais, en tous cas, agissant de la même manière.

Malheureusement, le critérium souvent employé ici, non activité avant d'avoir été chauffé à 90 degrés, n'a pu être mis en jeu à l'égard du sucre de betterave, celui-ci passant par des températures analogues avant d'être livré au commerce ; ajoutons, ce qu'on verra d'ailleurs dans le tableau XX, que le saccharose chimiquement pur est dépourvu de tels composés organiques, ce qui confirme notre hypothèse et écarte également d'emblée toutes propositions tendant à faire endosser l'osmose d'une telle action. Ceci nous explique encore pourquoi la prolifération des levures en milieu minéral marche ordinairement d'autant mieux que la quantité de saccharose est plus élevée. Pour notre part, nous avons, au cours d'un travail antérieur (1), fait une pareille remarque au sujet de certains bacilles, sans avoir pu, à ce moment, en saisir le motif.

Deuxièmement : Des fermentations exécutées en milieu identique, saccharosées à 25 0/0, mais dont les unes reçurent de la matière activante tandis que les autres en avaient été

(1) Pierre Goy. Contribution à l'étude de bacilles producteurs de viscosité. 1914.

privées, présentèrent, en fin de compte, les résultats suivants :

1° Même poids d'alcool trouvé dans l'un et l'autre cas, après un temps de culture égal (ceci n'est plus pour nous surprendre, sachant maintenant l'apport que fait le sucre ordinaire);

2° Poids de végétal également inchangé ;

3° Le poids de sucre inutilisé restant, en fin de fermentation, a été trouvé légèrement plus élevé dans les cultures n'ayant pas reçu de facteurs accessoires.

TABLEAU XIX : Cultures de *S. cerevisiæ*

I. — ACTION D'UN FACTEUR ACCESSOIRE DE LA CROISSANCE SUR LA MARCHÉ DE DÉBUT D'UNE FERMENTATION ALCOOLIQUE EN MILIEU MINÉRAL SACCHAROSÉ A 24,75 o/o (SUCRE DE BETTERAVE ORDINAIRE).

ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

	Alcool 0/0 —	Poids de végétal par 100 c.c.		Numération —
		A l'état sec —	Par rapport au témoin —	
		en mgr.	en mgr.	
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	3°372	48		97
2. Liquide de MAYER + facteur accessoire	3°781	52	+ 4	118

II. — ACTION D'UN FACTEUR ACCESSOIRE DE LA CROISSANCE SUR L'ENSEMBLE DES PHASES D'UNE FERMENTATION EN MILIEU SACCHAROSÉ A 24 GR. 74 o/o (SUCRE ORDINAIRE).

	Jours de culture —	Alcool 0/0 —	Poids de végétal par 100 c.c.		Numéra- tion —
			A l'état sec —	Par rapport au témoin —	
			ce milligr.	en milligr.	
A. Liquide de MAYER sans fac- teur accessoire adjoint....	10	6°411	+ 47		90
B. Liquide de MAYER avec fac- teur accessoire adjoint....	10	6°302	+ 49	+ 2	112
C. Liquide de MAYER sans fac- teur accessoire adjoint....	13	6°000	+ 39		91
D. Liquide de MAYER avec fac- teur accessoire adjoint....	13	6°000	+ 42	+ 3	90

Nous avons dit, tout à l'heure, que le saccharose chimiquement pur était débarrassé de corps accélérateurs, voici quelques chiffres relatifs à ce sujet.

TABLEAU XX : Cultures de *S. cerevisiae*

I. — LE SACCHAROSE CHIMIQUEMENT PUR EST DÉPOURVU DE FACTEURS ACCESSOIRES, TANDIS QUE LE SUCRE DE BETTERAVE ORDINAIRE EN CONTIENT SUFFISAMMENT POUR FAUSSER, DANS UNE NOTABLE MESURE, LES EXPÉRIENCES COMPARATIVES.

	Richesse en saccharose des cultures au début	Jours de culture	Facteur accessoire	Alcool 0 0	Poids de végétal à l'état sec par 100 c.c.	Numé- ration
1. Liquide de MAYER (sucre ordinaire) ..	26 16 0/0	4	—	3°912	59	112
	26 16 0/0	4	+	4°005	62	119
2. Liquide de MAYER (sucre chim. pur) ..	24 0/0	4	—	0°400	5	7
	24 0/0	4	+	2°321	30	77
3. Liquide de MAYER (sucre chim. pur) ..	24 0/0	7	—	2°247	32	80
	24 0/0	13	—	4°100	63	112
4. Liquide de MAYER (sucre ordinaire) ..	24 0/0	13	+	8°715	44	91
5. Liquide de MAYER (sucre chim. pur) ..	26 0/0	20	—	9°919	40	86
	26 0/0	20	+	9°961	41	90

On peut en conclure que *les levures sont capables de se développer malgré l'absence totale de facteur accessoire quel qu'il fût*, les constituants employés dans ces expériences n'en contenant pas, et ceci est un point intéressant à retenir.

S'il était besoin de confirmer ce fait, nous dirions que des milieux minéraux et organiques chauffés à l'autoclave, dans des conditions telles que ni le facteur A ni le facteur B ne pût subsister, se montrèrent pourtant aptes à l'évolution des saccharomyces.

Les saccharomyces peuvent se développer en milieu dépourvu de facteur accessoire quel qu'il soit.

Nous profiterons de la mise en évidence de ce facteur dans des composés organiques, comme le sucre de betterave, corps dans lesquels nous ne soupçonnions pas auparavant son existence, pour dire combien, dans les recherches de ce genre, il est utile d'écarter tout ce qui n'est pas chimiquement pur.

C'est ainsi que l'eau de source, pourtant regardée comme pauvre en matière organique, s'est montrée riche en un composé, capable également, dans une certaine mesure, de fausser bien des expériences. Même observation au sujet de la verrerie employée au cours de la constitution des milieux minéraux : ces ustensiles, pour être irréprochables, doivent avoir été lavés très soigneusement à plusieurs eaux et, par mesure de prudence, flambés au four à 170 degrés, température nécessaire à la destruction des corps organiques actifs.

Dans le même ordre d'idées, il est préférable de n'employer, pour lesensemencements, que le fil de platine droit et fin, l'anse amenant un supplément de matières organiques plutôt nuisible en l'occurrence.

Existe-t-il un rapport entre la faculté qu'ont certains organismes de croître quasi indéfiniment sur milieu minéral, et la richesse plus ou moins marquée qu'acquiert leur milieu de

culture en facteurs accessoires de croissance? Nous ne saurions l'affirmer, toujours est-il que le *Mucor Mucedo*, cultivé près de deux années en solution chimiquement définie, sans passer une seule fois sur milieu organique, s'est toujours révélé comme largement capable de synthétiser ces corps. Tandis que la levure d'une aptitude moindre à ce travail dégénère sans trop tarder, si l'on ne prend soin de la repiquer quelquefois en milieu organique.

Quant au *Penicillium glaucum*, si mauvais ouvrier dans ce genre de synthèse, il ne résiste pas à quelques réensemencements en liquide de nature purement minérale.

L'esprit humain cherche toujours, quand un cas nouveau se présente à lui, d'en connaître, outre les tenants et les aboutissants, les analogies et faits similaires.

Première analogie :

On connaît les vues d'Arthur Harden (1) sur la fermentation alcoolique ; on sait que cet auteur attribue un rôle prépondérant au phosphore dans le dédoublement des polysaccharides en alcool et anhydride carbonique. « L'addition d'un phosphate au suc de levure, dit-il, produit non seulement l'effet ci-dessus décrit (vitesse accélérée du dédoublement du sucre), mais encore rend un volume donné de suc de levure capable de produire une fermentation totale plus grande en valeur absolue. »

Les expériences qui amenèrent Harden à concevoir la formation d'un hexas-phosphate intermédiaire au cours de l'équation théorique de Gay-Lussac ($C^6H^{12}O^6 = 2C^2H^6O + 2CO^2$) sont trop longues pour être énumérées, mais le fait intéressant qui constitua le point de départ de ses recherches fut la

(1) La fermentation alcoolique. HARDEN 1913, pages 49 et suivantes.

constatation d'une accélération notable de la production d'anhydride carbonique quand le suc de levure frais était additionné de son volume de suc de levure *bouilli*.

Pour cet auteur, les facteurs responsables de cette augmentation sont : la présence de phosphate dans le milieu et l'existence dans le suc de levure d'un co-ferment ou co-enzyme dont l'existence est absolument nécessaire à la fermentation.

En ce qui concerne l'élément minéral, Harden estime que : « les phosphates subissent cette transformation caractéristique (en composé organique phosphoré) quand le sucre qui fermente est du glucose, du lévulose ou du mannose ». Mais, quant à la deuxième partie, il avoue que : « le rôle exact du co-ferment est encore plus obscur que sa nature chimique ».

Enfin, comme « l'addition d'un phosphate seul peut prolonger considérablement la période de fermentation du suc de levure », dit encore Harden, cela amène l'auteur à conclure : « qu'il faut chercher l'explication de l'augmentation remarquable de la fermentation totale produite par addition de suc bouilli : 1° à un mélange de sucre, de suc, de levure fraîche, de phosphate libre (qui se transforme en hexas-phosphate) et de co-ferment ; 2° au suc de levure autolysé et bouilli, contenant du phosphate libre, mais pas de co-ferment ; 3° ou encore à la solution de phosphate seul ».

Si l'hypothèse du rôle joué par ce phosphate organique est ingénieuse, par contre elle ne manque pas d'une certaine hardiesse, et ce n'est pas là la cause qui nous la fait citer, mais au contraire le fait que ce soit précisément du suc de levure *bouilli* qui ait pu fournir un tel phénomène *in vitro*, si nous avons bien saisi les expériences d'Harden, alors que nous avons enregistré des résultats analogues : 1° *in vivo* avec accélération considérable de la prolifération tout en éliminant dans une très grande mesure le processus fermentatif (large aérobiose) ; 2° au moyen d'une substance ne contenant pas de phosphore (voir analyse page 124) ; 3° avec des orga-

nismes ne présentant aucun caractère des ferments alcooliques (*mucor mucedo* non immergé) ; 4° par l'emploi d'un corps carbone issu d'acide organique ou d'alcool (voir page 125).

H. Euler (1) pût, à son tour, en 1919, répéter les expériences d'Harden en partant d'un extrait de levure, mais obtint des résultats analogues avec du formiate d'ammoniaque ou des formiates des métaux alcalins.

E. Abderhalden et A. Köhler (2) réussirent de leur côté à extraire de la levure par l'alcool absolu une substance favorisant la multiplication, non seulement des levures elles-mêmes, mais des autres végétaux inférieurs également. Cette matière, par exemple, à l'inverse de celle que nous avons obtenue cristallisée, n'agit que sur les êtres jeunes, n'ayant peu ou pas d'action sur les cellules présentant un mauvais état physiologique.

Sont-ce là diverses particules d'un tout ? Nous ne savons ; mais, en présence des faits relatés par Harden, la question vaut la peine d'être étudiée sur de nouveaux plans, car, à l'heure actuelle, *on peut, non sans raison, se demander si les transformations chimiques du milieu ou prolifère la levure, par exemple, sont dues à la multiplication de cet organisme ; ou si cette multiplication résulte au contraire indirectement de la modification survenue aux composants de son substratum par l'apport de culture chauffée contenant encore un co-facteur agissant au contact des premiers enzymes sécrétés.*

Deuxième analogie :

On peut, sans conteste, établir un rapprochement entre les phénomènes qui nous ont frappés dans ces recherches, et les réactions que l'on obtient *in vitro*, au cours des sérodiagnostics (réaction de Wassermann par exemple). Dans l'un et l'autre cas, un système de trois substances semble devoir

(1) H. EULER. Zeitsch. F. Techn. : Biologie. T. VII, 1919, page 155.

(2) E. ABDERHALDEN et A. KOEHLER. P. flüger's Archiv : T. CLXXVI, 1919, page 209.

être présent pour que le processus puisse s'effectuer (substance fermentescible, ferment et co-ferment, ce dernier obtenu de la même manière en sérologie).

Troisième analogie :

Il ne fait aucun doute que les corrélations fonctionnelles des êtres supérieurs ne se font pas uniquement par l'intermédiaire du système nerveux : « Tout un ordre de faits nouveaux, dit Gley, a été découvert, d'où il ressort que de telles coordinations résultent aussi d'actions purement chimiques. » Ces corps proviennent de glandes à sécrétion interne que les physiologistes divisent aujourd'hui en deux groupes : les hormozones à action morphogène, et les hormones vraies agissant en excitant fonctionnel spécifique ; ce sont de ces dernières dont nous voulons parler. Ces corps « n'apportent pas d'énergie aux éléments qu'ils influencent, ils libèrent de l'énergie préexistante, ils ordonnent et déclenchent le travail physiologique. » (E. Gley) (1).

N'est-ce pas précisément le mode d'action qui nous a frappé dans l'emploi des facteurs stimulant la croissance des levures et autres végétaux du même ordre ? Il n'y a peut-être là qu'une apparente similitude ne correspondant ni au processus chimique, ni au fait physiologique ; mais l'analogie valait la peine d'être signalée, ne serait-ce que pour montrer l'infinie ramification des réactions biologiques rassemblées dans un même horizon.

*
* *

Nous devons signaler deux exceptions à la loi commune présidant au phénomène d'activité étudié ici.

Ces anomalies sont, en quelque sorte, inverses l'une de l'autre et, en tous les cas, nettement définies, formant ce que l'on pourrait appeler des exceptions confirmant la règle, si un tel aphorisme nous était permis.

(1) *Traité élémentaire de physiologie*. T. II, page 1195.

Première exception. — De tous les milieux biologiques employés : culture microbienne, extraits végétaux, etc., seuls les jus de citron et d'orange n'ont eu besoin d'aucun chauffage préalable pour dévoiler leur action sur l'évolution des êtres monocellulaires.

La première hypothèse formulée était d'en attribuer le rôle au facteur B, soluble dans l'eau, et précisément rencontré en abondance parmi ces fruits. Mais alors, s'il devait en être ainsi, force était d'en détruire l'effet par une ébullition prolongée à 120 degrés ou, tout au moins, de diminuer notablement cette action par un tel procédé.

Or, nous n'y sommes pas arrivé, un chauffage à l'autoclave de 1 heure, à 130 degrés n'eût aucune influence sur la marche du phénomène ; il devenait donc difficile, sinon impossible, en pareil cas, d'attribuer aux véritables vitamines le rôle que nous venions de leur prêter.

A tout hasard, nous avons cherché si l'acidité du jus devait alors être mise en cause ; pour cela, il fût préparé des témoins additionnés d'acide citrique chimiquement pur et en des proportions identiques à celles où cet acide se trouvait dans le liquide emprunté au fruit lui-même. Le résultat, ici, fût encore négatif, comme les chiffres suivants le prouveront.

TABLEAU XXI : Cultures de *S. cerevisiæ*
ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

	Alcool 0/0	Poids de végétal 100 cc.		Numération
		à l'état sec	par rapport au témoin	
		en mgr.	en mgr.	
I. — RECHERCHE DU POUVOIR ACTIVANT DANS LES JUS DE CITRON ET D'ORANGE PORTÉS 5 M. A 110° ET 1 HEURE A 130°.				
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	1°700	16		17
B. Liq. de MAYER nature....	{ 8°454 8°102 8°201	67	+ 51	innombrable
+ jus orange.. 5 m. à 110°		68	+ 52	innombrable
1 h. à 130°		69	+ 53	innombrable

	Alcool 0/0	Poids de végétal 100 cc.		Numération
	—	à l'état sec	par rapport au témoin	—
C. Liq. de MAYER nature.....	{	9°010	+ 49	innombrable
+ jus citron.. 5 m. à 110°		9°130	+ 47	innombrable
1 h. à 130°		9°100	+ 50	innombrable
II. — ACTION COMPARATIVE DU JUS DE CITRON ET DE L'ACIDE CITRIQUE CHIMIQUEMENT PUR.				
I. Liquide de MAYER + 1 c.c. 0/0 jus de citron.....	9°002	67	+ 51	innombrable
B. Liquide de MAYER + acide citrique	1°400	14	— 2	16

Trois hypothèses sont donc permises.

1° Ou nous sommes en présence du même corps, qui n'a pas besoin de la transformation s'effectuant d'habitude à 85-90 degrés, celle-ci ayant eu lieu par voie biologique en cours d'élaboration, au sein des cellules même du citron et de l'orange ;

2° Ou cette modification s'opère à froid par réactions chimiques extra-cellulaires ;

3° Ou bien ce corps organique actif est de nature différente tout en agissant d'une manière analogue sur le développement des micro-organismes.

De toute façon, la conclusion pratique que nous tirerons d'un tel avantage est celle-ci : lorsque, pour une raison quelconque, l'ensemble des constituants d'un milieu organique ou minéral ne devra subir une température voisine de celle de l'eau bouillante et ne pourra, en conséquence n'être stérilisé que par tyndallisation ou filtration à la bougie, l'emploi des jus de l'un ou l'autre de ces deux fruits sera tout spécialement indiqué pour parer à un déficit organique d'intérêt évident.

Cette constatation a aussi un autre intérêt. Nous nous

excusons de citer un peu longuement A. Lumière (1), mais préférons ne pas toucher au texte :

« Un extrait aqueux de levure de bière a été traité par l'acide phosphotungstique, et le précipité recueilli, lavé, décomposé par la baryte, a donné un liquide renfermant les vitamines actives pour les animaux, la liqueur résiduelle, non précipitable par le réactif et complètement inefficace pour le traitement de la polynévrite des oiseaux, a été recueillie, d'autre part, puis ces deux portions ont été ajoutées aux différents milieux artificiels suivants : liquide de Raulin, solution de Detmer, solution de Winogradsky, puis ensemencées comparativement à des témoins avec le *Penicillium glaucum*, l'*Aspergillus niger* et le *Rhizopus nigricans*.

La fraction phosphotungstique, riche en matières curatives de l'avitaminose, ralentit d'une manière constante la végétation, comme on peut s'en rendre compte en examinant les figures 6 et 7 (2).

La portion de l'extrait qui renferme les vitamines indispensables aux animaux paralyse le développement des cultures, tandis que l'autre partie, exempte de vitamines, exerce une action variable suivant les milieux employés et les micro-organismes ensemencés ; favorisante pour les milieux pauvres, elle est, en général, inutile quand elle est ajoutée aux milieux artificiels appropriés.

Les vitamines seraient donc nuisibles au développement des végétaux, d'après ces expériences.

Rappelons que, quand on fait passer un extrait vitaminique sur de la terre à foulon (Harden et Silva) ou sur un précipité de silicate d'alumine hydraté, désigné sous le nom de réactif de Lloyd (Seidell), les vitamines sont retenues par les particules insolubles très divisées constituant la masse

(1) Auguste LUMIÈRE : *Influence des Vitamines et des Auximones sur la croissance des végétaux*. Ann. de l'Institut Pasteur. T. XXXV, janvier 1921, pages 118 et suivantes.

(2) Figures données par l'auteur, mais non reproduites ici.

argileuse, et le liquide qui filtre au travers de ces substances est complètement privé de tous corps anti-névritiques. Partant d'extrait de levure, nous avons ajouté le filtrat ainsi obtenu à la solution de glycérine et de tartrate d'ammoniaque, et nous avons pu nous assurer que, bien que la liqueur ne renferme plus de vitamines, ses propriétés fertilisantes pour les moisissures étaient parfaitement conservées, ainsi qu'on peut en juger par l'examen des cultures comparatives, reproduites dans la figure.

Il est à remarquer que la végétation est plus abondante dans le liquide qui a été filtré qu'avant son passage sur la terre à foulon. En retenant les vitamines, on a donc éliminé une substance nuisible, et, d'après les expériences précédentes, il semble bien que cette substance nuisible soit la vitamine elle-même. »

Nous répondrons que, précisément, les jus de citron et d'orange, des plus riches en vitamines, l'expérience l'a appris, possèdent une action considérable sur l'évolution des levures, et ceci *sans que ces corps aient pu être altérés d'une façon quelconque*.

La vitamine n'est donc pas nocive pour les végétaux inférieurs, en tous cas, et ne saurait en conséquence être incriminée dans les échecs que nous avons nous-mêmes observés, relatés, et commentés pages 83 et suivantes.

Deuxième exception. — Nous avons attribué à l'impureté de sucre de betterave (voir page 108) la non accélération de prolifération par adjonction de corps extraits de culture bactérienne quand un tel développement s'effectua en solution fortement saccharosée, et pensions que le sucre devait apporter avec lui les facteurs que nous nous étions évertués à adjoindre séparément. Confirmant cette hypothèse, des solutions ayant reçu du saccharose chimiquement pur ne présentaient pas la même particularité.

La question qui se pose est celle-ci : le (ou les) corps organiques actifs véhiculés par le sucre ordinaire sont-ils de

même nature que ceux émis par les bacilles et mucorinées ? Il peut y avoir doute, car des solutions fortement saccharosées perdent, à l'inverse des extraits de citron, orange et cultures diverses, cette précieuse qualité, si l'on prend soin de les porter au préalable une heure à 130 degrés, fournissant ainsi avec les témoins des différences très notables qui, pour n'être pas exactement du même ordre que celles enregistrées lorsque nous avons employé du saccharose pur, n'en sont pas moins assez troublantes...

TABLEAU XXII : Cultures de *S. cerevisiæ*

ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

I. — EVOLUTION COMPARATIVE DE LA LEVURE SUIVANT QU'ELLE EST CULTIVÉE EN MILIEU DE MAYER ET PORTÉE 1 H. A 130° OU 5 M. A 110°.

	Stérilisation		Alcool 0 0	Poids de végétal par 100 c.c.
	Temps	Degrés		
A. Liquide de MAYER.....	5 m.	110	3°621	41
B. Liquide de MAYER.....	5 m.	110	3°590	39
C. Liquide de MAYER.....	1 h.	130	1°759	18
D. Liquide de MAYER.....	1 h.	130	1°847	21

En connaissance de cause, une seconde question devait fatalement suivre la première : sommes-nous enfin en présence de véritables vitamines ?

Répondre à ce point d'interrogation c'est, dans l'affirmative, admettre l'influence des vitamines sur l'évolution des infiniment petits, dans la négative, c'est, au contraire, reculer encore un peu plus la solution du problème.

Le sucre de betterave contient bien, en effet, de tels corps, en outre, ceux-ci disparaissant dans les mêmes conditions, si les dernières accélérations constatées sont dues à la présence du facteur A ou B (ce qui est loin d'être démontré, la chaleur pouvant avoir aussi une action sur le degré d'assimilabilité du saccharose), il devient inversement très intéressant de recher-

cher l'action que peut provoquer notre matière organique sur de jeunes animaux atteints d'avitaminose.

C'est ce que nous nous étions proposé de faire, et pensions scinder l'expérience en quatre catégories, les trois premiers lots devant être injectés avec de la substance activante extraite à l'état pur et dissoute dans du sérum physiologique.

Le premier lot devait recevoir le corps organique non chauffé (c'est-à-dire inactif sur les végétaux inférieurs) ; le second lot, après avoir été porté à 90 degrés (c'est-à-dire actif vis-à-vis des monocellulaires) ; le troisième lot, après avoir reçu une stérilisation à l'autoclave de 1 heure 30 minutes à 130 degrés (température détruisant les vitamines rencontrées jusqu'à ce jour, mais n'ayant pas encore d'action sur notre matière vis-à-vis des microbes) ; enfin, le quatrième lot était destiné à nous servir de témoin.

Malheureusement, par une malchance que la délicatesse seule de l'expérience peut expliquer, les souris soumises au régime se comportèrent normalement durant des semaines entières, ce qui nous empêcha de réaliser notre projet. Ces animaux mangeaient-ils une partie de leur déjection ? Ou bien leur nourriture avait-elle le temps de s'infecter suffisamment avant complète ingestion, nous ne saurions trop dire, mais nous n'avons pu mettre, toujours est-il, notre projet à exécution.

Néanmoins, nous nous proposons de reprendre ce sujet incessamment, nous réservant d'en publier ultérieurement les résultats.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

A QUEL MÉTABOLISME APPARTIENT LA SYNTHÈSE DES MOLÉCULES ACCÉLÉRANT LA PROLIFÉRATION DES MICROBES

La question fut posée de savoir si les facteurs présidant à la croissance et à l'équilibre des animaux supérieurs, étaient dus à un métabolisme particulier, (azote, phosphore, hydrates de carbone, etc.), ou bien si, au contraire, ces composés organiques provenaient de l'ensemble des métabolismes (C.H.O.N.S.Ph., etc...) constituant le métabolisme des êtres vivants en général et des bactéries en particulier. La question ainsi posée ne fut pas résolue, croyons-nous, et pour cause !...

D'après l'intéressante conception de Mockeridge, au sujet des auximones, c'est au cycle de l'azote qu'il faudrait attribuer le phénomène, ou plus exactement au processus assimilatif de cet élément.

Certains dérivés de l'acide nucléique (un dinucléotide, de la purine, de la pyrimidine) rencontrés dans diverses matières

organiques en décomposition seraient pour Bottomley les substances mêmes accélérant la croissance des végétaux.

Nous avons, de notre côté, cherché à élucider ce problème au sujet de la matière organique extraite des cultures de *Mucor Mucedo*. Il semble, ceci est une impression, qu'il faille en premier lieu écarter toute transformation directe d'un élément quelconque en facteur accessoire. Bien des choses nous incitant à penser qu'un tel composé résulte plutôt d'un long enchaînement intra-cellulaire dont le dernier mail-
lon seulement, représenté par ce corps, n'appartiendrait plus à la cellule.

Corps carboné synthétisé en milieu où cet élément n'y figure que sous forme d'hydrates de carbone, provient-il d'une forme dégradée de l'un d'eux ? Il n'y faut pas songer, outre que nous ayons pu obtenir de pareils composés au moyen de matières ternaires et quaternaires de toutes sortes, il nous fût possible d'en identifier non seulement avec la glycérine et l'alcool éthylique ayant servi d'aliment carboné au mucor générateur, mais aussi avec des acides organiques ou des complexes beaucoup plus élevés comme l'amidon (voir tableau XXIII, page 125).

Disons donc tout simplement que ce corps organique provient de la destruction d'une molécule carbonée, que son élaboration n'est pas obligatoirement obtenue par utilisation d'un sucre et qu'un organisme comme le *Penicillium glaucum*, produisant dans le même temps cinq fois plus de végétal et détruisant trois fois plus de saccharose qu'un mucor (*M. Mucedo*), n'en synthétise cependant pas pour cela de facteur actif.

Bien plus, nous ajouterons que la même espèce de mucor, végétant en deux milieux minéraux ne différant que par leur pourcentage en saccharose, ne fournit pas pour cette raison plus de corps organique actif dans l'une ou l'autre des deux cultures : celles-ci présentant pourtant à l'origine un écart en richesse saccharine énorme, traduit au moment de la prise

Recherches de la substance accélérant la croissance des végétaux intérieurs lorsque le carbone des milieux de culture se trouve sous différentes formes

TABEAU XXIII : Cultures de *S. cerevisiae*

	Corps remplaçant la saccharose (1)	Aspect du mucor le 16 ^e jour au moment de la prise d'essai	Analyses effectuées 5 jours après ensemencement	
			Alcool 0/0	Poids de levure par 100 c.c.
1. Liquide de MAYER		beau développement très noir	5°000	60
2. Liquide de MAYER		plus clair que arbutine	5°510	61
3. Liquide de MAYER		bien développé, très noir	3°101	49
4. Liquide de MAYER		bien développé, très noir	3°007	45
5. Liquide de MAYER		dévl. non en surface	2°002	27
6. Liquide de MAYER		bien développé	2°710	33
7. Liquide de MAYER		bien développé	4°110	52
8. Liquide de MAYER		peu développé	5°829	63
9. Liquide de MAYER		aucun développement	0°	0
10. Liquide de MAYER		aucun développement	0°	0
11. Liquide de MAYER (témoin)		beau développement	5°729	61

(1) En quantité isomoléculaire quant au carbone.

d'essais par une production de végétal également fort différente.

Il semble donc difficile d'établir un rapport absolu entre le poids de matière activante produite et la masse de végétal ayant présidé à son élaboration. Remarque confirmée d'ailleurs en maintes circonstances. Les tableaux suivants donneront sur la question un premier aperçu.

TABLEAU XXVI

I. — RECHERCHE DU POUVOIR ACTIVANT DANS DES CULTURES DE MUCOR AGÉE DE 14 JOURS EFFECTUÉES EN SOLUTIONS PEU, ET FORTEMENT SACCHAROSÉES.

A. Culture en liquide de MAYER + 0,1 o/o saccharose	{ Surface de culture recouverte par le végétal, mais développement peu fourni et spores de couleur grise.
B. Culture en liquide de MAYER + 10 o/o saccharose.	{ Très beau développement du végétal dont les spores sont d'une belle couleur noire.

II. — CULTURES DE *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT.

	Alcool 0 0	Poids de végétal par 100 cc. à l'état sec	par rapport au témoin	Numération
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	1°860	14	—	16
2. Liquide de MAYER + 0,4 o/o de culture A.....	3°244	46	+ 32	96
3. Liquide de MAYER + 0,4 o/o de culture B.....	3°323	48	+ 34	118

Alors, que peut-on conclure sur l'origine de ce corps ?

On peut, l'analyse le confirmera, accuser le métabolisme du carbone d'être la conséquence d'une telle synthèse ; sans pour cela affirmer qu'un travail d'assimilation rendu plus difficile par la présence d'azote sous forme uréique, ou de nature plus complexe encore, n'entraîne pas une notable accélération dans sa production. Une telle remarque nous a, en effet, frappé à plusieurs reprises.

Composition chimique élémentaire de la substance accélérant l'évolution des végétaux inférieurs.

On sait quelle obscurité règne sur la composition moléculaire des facteurs A et B. On n'ignore pas, nous avons dit, les hypothèses nombreuses émises à leur sujet, mais ne reposant sur aucun fait précis. Tout vient de ce qu'ils n'ont pu être isolés et obtenus à l'état d'individualité chimiquement pure. Leur instabilité et leur présence en quantité si minime étant également de nature à compliquer les recherches.

Ayant réussi à extraire de plusieurs dizaines de litres de cultures assez de matière organique activante, nous avons cherché à en établir la formule élémentaire.

Disons de suite que cette substance est un hydrocarbure à fonction acide, ne renfermant ni azote, ni soufre, ni phosphore, aucun halogène, aucun métal.

Voici d'ailleurs les chiffres que nous avons obtenu.

	Pour 100 grammes
Carbone	41 gr. 85
Hydrogène	4 gr. 50
Oxygène (par différence) ..	53 gr. 65
Soit.....	100 gr. »

Nous aurions aimé en donner la formule.

Pour connaître le poids moléculaire de cette substance, la méthode la plus simple eût été d'en faire un sel de plomb, mais le peu de matière restant à notre disposition ne nous a pas permis, malheureusement, de pousser plus loin nos recherches.

Tout ce que nous pouvons ajouter à ces quelques données, c'est que 50 milligrammes de cet acide ont été neutralisés par 45 milligrammes 2 de KOH.

CHAPITRE II

ACTION DE LA CHALEUR SUR LES MOLÉCULES ACCÉLÉRANT LA CROISSANCE

Les hautes températures ont-elles une action nuisible sur ces composés accélérateurs ? Dans quelle mesure peut-on compter sur leur emploi pour débarrasser tel ou tel milieu organique du corps dont nous avons étudié ici le rôle ?

Nous dirons tout d'abord que ces derniers se montrent d'une façon générale beaucoup plus thermostable que l'on était en droit de le supposer. La destruction complète de leur pouvoir, ou plus exactement la démolition de leur édifice moléculaire n'ayant pu être atteinte entièrement par l'utilisation de la chaleur humide sous pression. Il est vrai que le matériel dont nous disposions ne permettait pas de dépasser 130 degrés. Néanmoins, les résultats que nous avons obtenus sont suffisamment expressifs pour déconseiller l'emploi de l'autoclave, au cas où l'on désirerait agir en milieu naturel dépourvu de tous facteurs accessoires : de ceux ayant une action sur les végétaux inférieurs bien entendu.

Mais, si au lieu d'opérer sur les milieux de culture renfermant *in situ* les corps tant étudiés, nous employons ceux-ci à l'état pur, tout en substituant le four Pasteur à l'autoclave,

voici les diverses phases par lesquelles passe cette matière .

Jusque vers 160 degrés, rien d'anormal ne nous surprend, puis si, continuant nos recherches, nous élevons progressivement la température, la qualité activante des facteurs accessoires de la croissance disparaît totalement avant que le thermomètre n'ait atteint 170 degrés. Hormis ce fait, aucun changement ne peut encore être signalé. Mais si, persistant, nous maintenons pendant un certain temps cette substance aux alentours de 170 degrés, deux observations saillantes doivent être enregistrées :

Premièrement. — La matière pulvérulente se divise en deux parties :

L'une, après s'être volatilisée, se condense sous forme cristalline le long des parois du tube la renfermant, pour peu que celui-ci soit légèrement incliné ; cristaux d'apparence hyaline affectant le système clinorhombique.

Tandis que l'autre fraction ne semble pas, au premier abord, avoir subi de changement.

Deuxièmement. — Cette nouvelle substance cristallisée est bien plus difficile à dissoudre dans l'eau, même chaude, que la matière primitive dont elle provenait ; quant à la seconde partie, nous n'avons pu que difficilement la mettre en solution.

Nous voici donc en présence de deux corps constitutifs d'un premier composé organique. Il restait à savoir si la précieuse qualité qui formait l'unique valeur de ce composé pouvait être retrouvée après le dédoublement dans l'une ou l'autre des parties constituantes ?

Essayées en des proportions diverses, ni la substance à cristaux clinorhombiques, ni la matière amorphe restée au fond du tube ne manifestèrent la moindre action sur l'évolution des levures.

Leur réunion, d'ailleurs, ne donna pas de meilleurs résultats.

TABLEAU XXV : Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 5 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

		Poids de végétal par 100 cc.		
	Alcool 0,0	à l'état sec	par rapport au témoin	Numération
I. — ACTION DE LA CHALEUR SÈCHE SUR LA MATIÈRE OR- GANIQUE ACTIVE A L'ÉTAT PUL- VÉRULENT.				
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	1°361	17		18
B. Liquide de MAYER + 2 mg. o/o de matière activante pure	4°879	66	+ 49	121
C. Liquide de MAYER + 2 mg. o/o de matière activante por- tée préalablement 1 h. à 100° dans l'étuve GAY-LUSSAC	4°788	63	+ 46	108
D. Liq. de MAYER + substance activante portée préa- lablement à 170° au four Pasteur pendant	{ 2 h. 1°422 { 1 h. 1°509 { 15 m. 2°101	18 19 21	+ 1 + 2 + 4	19 21 26
II. — ACTION DES DEUX SUB- STANCES NOUVELLEMENT OBTENUES PAR LA CHALEUR AU DELA DE 170°.				
1. Liquide de MAYER + partie restée pulvérulente	1°393	20	+ 3	20
2. Liquide de MAYER + partie cristallisée (système clino- rhombique)	1°407	19	+ 2	16

D'autre part, nous avons cherché à abaisser le point de fusion de cette substance polymorphe, espérant l'extraire sous pression réduite sans altérer son action, nos efforts ont échoué sur ce point.

En résumé, nous dirons que la substance organique étudiée ici et émise telle qu'elle dans les milieux de culture ne manifeste son pouvoir sur l'évolution des jeunes cellules qu'après avoir été portée aux environs de 90 degrés, puis perd tant

soit peu cette action une fois soumise un certain temps à des températures plus élevées. Enfin, vers 170 degrés C., aucune trace du caractère si spécial de ce composé ne subsiste plus.

*
* *

On peut se demander en quoi diffère la matière organique encore inactive (avant 85-90 degrés) de celle ayant perdu cette qualité (après 165-170 degrés).

Il semble acquis à ce sujet que nous ne nous trouvions pas en présence d'une sorte de réintégration de la troisième forme chimique en la première ; car des réactions se produisant à de tels écarts de température, ne sauraient présenter la moindre analogie. La première peut être attribuée à quelque phénomène d'hydratation, de destruction partielle, d'inversion de pouvoir rotatoire ou autre genre d'isomérisation, par exemple, la seconde à un dédoublement, ou à une oxydation de l'une des fonctions constitutives. A moins que la période comprise entre 90 et 160 degrés soit un stade de transformation, sorte de terme intermédiaire entre deux combinaisons chimiques consécutives.

Le peu de matière extraite ne nous a pas suffi pour mener à bien une série d'investigations comparatives, seul moyen qui eût des chances de nous livrer la clef du problème.

A défaut d'un tel procédé, il nous a paru utile de rechercher, par les méthodes de coloration, quelques indications sur les trois composés suivants :

1° Matière activante n'ayant pas été portée à plus de 80 degrés ;

2° Matière activante portée à une température quelconque comprise entre 90 et 170 degrés ;

3° Matière activante portée à une température immédiatement supérieure à 170 degrés.

Le tableau suivant résume les faits observés :

nous allons voir, qu'au contraire, tout comme les véritables vitamines, sa fragilité n'est pas moindre vis-à-vis de certaines perturbations de l'éther, notamment celles dues au radium et aux rayons ultra-violetes ou bien encore ne résiste pas davantage à une ébullition même de très courte durée en présence d'un alcali.

Action du radium

sur les molécules accélérant la croissance.

On sait suffisamment, pour que nous évitions de nous étendre sur cette question, que le radium, comme tous les corps radio-actifs d'ailleurs, agit d'une manière fort nette non seulement sur la propriété chimique des corps exposés à leurs radiations, mais encore sur la vitesse de certaines réactions effectuées en leur présence.

Il est notoire que la vie, sans doute influencée favorablement dans quelques conditions très restreintes, est rendue en tous les cas impossible lorsqu'elle s'effectue non loin de corps doués largement d'une telle propriété.

Il fut constaté à l'Institut Pasteur, dans le laboratoire de Metchnikoff, que la toxine de la diphtérie laissée en contact avec du sulfate de radium perdait une notable valeur de son effet toxique. Même remarque fut faite pour la rage, les venins de cobra de vipère, et leurs antidotes (sérum antivenimeux de Calmette).

Par contre, il y eût exception pour la toxine du tétanos, qui semble, elle, ne pas souffrir d'un tel traitement.

Tout dernièrement, on s'aperçut que les vitamines n'échappaient pas non plus au pouvoir destructeur de ces radiations, il fut même reconnu que leur résistance, dans ces conditions, était de courte durée.

En présence de ces faits, il n'était donc pas sans intérêt de savoir dans quelle mesure l'énergie, dégagée par le précieux métal agissait sur la matière activante extraite des cultures de mucor.

Grâce à l'amabilité du docteur R. Gouverneur, qui a bien voulu mettre à notre disposition les quantités de radium nécessaires à une recherche de ce genre, il nous a été possible de dépouiller entièrement, par ce procédé, le composé organique actif du rôle si prépondérant qu'il joua d'habitude sur l'évolution des monocellulaires.

Voici les résultats obtenus :

TABLEAU XXVII

I. — INFLUENCE DES RADIATIONS DU RADIUM SUR LE POUVOIR ACTIVANT DE FACTEUR ACCESSOIRE DE LA CROISSANCE ISSU D'UNE CULTURE DE *Mucor Mucedo*

Temps d'exposition et conditions dans lesquelles ceux-ci s'effectuèrent.

	Poids de Ra utilisé	Temps d'exposition
Tube A	0 mg. 050	24 h. »
Tube B	0 mg. 050	73 h. 30
Tube C	0 mg. 100	73 h. 30
Tube D	0 mg. 100	24 h. »

Les tubes renfermant le radium étaient constitués par une double gaine de platine de 1 millimètre 5.

Dans ces conditions, un centigramme de radium donne en 24 heures un millicurie.

II. — CULTURES DE *S. cerevisiae*

	Alcool 0°0	Poids de végétal par 100 cc. à l'état sec par rapport au témoin		Numération
A. Liquide de MAYER, témoin.	2°000	19	—	28
B. Liquide de MAYER + 0,5 c.c. o/o de culture de M. mu- cedo non traitée par le ra- dium	5°902	68	+ 49	139
C. Liquide de MAYER + 0,5 c.c. o/o de D	5°410	67	+ 48	132
D. Liquide de MAYER + 0,5 c.c. o/o de B	4°601	50	+ 21	110
E. Liquide de MAYER + 0,5 c.c. o/o de A	4°226	48	+ 29	92
F. Liquide de MAYER + 0,5 c.c. o/o de C	2°505	25	+ 6	37

Action des rayons ultra-violet sur les molécules accélérant la croissance.

Les composés organiques, en général, sont également sensibles aux rayons ultra-violet, ceux-ci ayant non seulement la propriété d'accélérer certaines réactions qui, à l'obscurité, s'effectueraient au bout d'un temps beaucoup plus long, ou que la chaleur seule pourrait déterminer à de hautes températures, mais encore de dégrader profondément certaines grosses molécules carbonées, telle le lévulose, qui, sous pareille influence, est conduit jusqu'à l'état d'aldéhyde formique et d'oxyde de carbone.

Pour beaucoup, ce pouvoir destructeur doit être rapproché avec avantage du travail de bien des microbes, comme, par exemple, le dédoublement qu'arrivent à faire certaines bactéries transformant l'acide lactique en alcool et acide carbonique, grâce à une décarboxylation ; travail qu'effectue également la lumière ultra-violette au moyen d'un double jeu de réductions et d'oxydations.

Nous avons donc cherché à nous rendre compte de l'influence de cette partie du spectre sur notre matière activante ; cette expérience comporta trois essais, avouons que les résultats ne furent pas très brillants, la qualité accélératrice de ce corps résistant à des expositions de longue durée. Tout juste sommes-nous arrivé à diminuer un peu la valeur de ces composés organiques par ce moyen.

Sans chercher à établir, faute de méthode, le moindre

parallèle entre l'effet destructeur du radium et celui des rayons ultra-violet, il semble que cette matière résiste moins longtemps à ceux-ci qu'à ceux-là. Ce qui avait été précisément constaté au sujet des facteurs accessoires A et B.

Voici quelques chiffres en ce qui concerne le procédé lumineux :

TABLEAU XXVII

I. — ACTION DES RAYONS ULTRA-VIOLETS SUR LE POUVOIR ACTIVANT DE CORPS PROVENANT DES CULTURES DE MUCOR, ET ADJOINTS APRÈS LES EXPOSITIONS SUIVANTES.

10 cc. de culture de Mucor traités	Temps d'exposition
Tube n° 1	12 heures
Tube n° 2	8 heures
Tube n° 3	2 heures

Ces expositions eurent lieu à 3 ou 4 centimètres d'une lampe 110 volts (8-10 ampères).

II. — Cultures de *S. cerevisiae*

ANALYSES EFFECTUÉES 4 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

	Alcool	Poids de végétal par 100 cc		Numération
		à l'état sec	par rapport au témoin	
A. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	2°201	17		16
B. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o de culture de mucor non traitée par les rayons ultra-violet	4°721	56	+ 39	129
C. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o du tube traité n° 1....	3°406	31	+ 14	88
D. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o du tube traité n° 2....	4°601	47	+ 30	134
E. Liquide de MAYER + 1 c.c. o/o du tube traité n° 3....	4°800	55	+ 38	130

Action de l'ébullition en milieu alcalin sur les molécules accélérant la croissance.

Il a été constaté, sans doute fortuitement, puisque les facteurs A et B n'ont pu être isolés jusqu'à présent, que ces derniers ne résistaient pas à une ébullition même de courte durée en solution alcaline ; cette remarque avait été faite au sujet des végétaux, et notamment des légumes cuits dans de telles conditions.

Daniels et Mc Churg (1) constatèrent, par contre, que la chaleur en milieu neutre ou acide n'avait pas cette propriété.

Ce mode de destruction, nous ne chercherons pas non plus à l'expliquer, tout ce que l'on peut dire c'est que le fait est loin d'être unique, bien des composés de la chimie organique, en effet, ne résistent pas à la soude ou à la potasse, scindant leur molécule en plusieurs fractions ou bien formant parfois un composé organo-métallique d'allure très différente.

Nous nous sommes donc proposé de rechercher quelle action pouvoit avoir la potasse sur la matière activante isolée à l'état pur. A cet effet, nous avons placé dans un tube à essais 0 gr. 005 de matière avec un petit fragment d'hydrate de potassium ne représentant pas la moitié de la matière organique, le tout dissous dans un peu d'eau distillée et maintenu de 30 à 50 secondes en pleine ébullition.

(1) Amy. L. DANIELS et NELL. I. Mc. CLURG. Influence of high temperature and dilute alkalis on the antineuritic properties of foods. *Journ. Of. Biol. chem.* 1919, pages 201, 215.

Des témoins, judicieusement faits, nous apprirent qu'aucun doute possible ne pouvait subsister : la matière organique avait, de ce fait, perdu son pouvoir accélérateur, tout comme les vitamines en des conditions analogues.

TABLEAU XXVIII : Cultures de *S. cerevisiæ*

ANALYSES EFFECTUÉES 7 JOURS APRÈS ENSEMENCEMENT

	Poids de végétal par 100 cc.			
	par rapport			
	Alcool 0'0	à l'état sec	au témoin	Numération
I. — ACTION DE L'HYDRATE DE POTASSIUM SUR LA MATIÈRE ORGANIQUE ACTIVE EN SOLUTION AQUEUSE PORTÉE 30 A 50 SECONDES A ÉBULLITION SUR BEC BUNZEN.				
1. Liquide de MAYER, <i>témoin</i> .	4°211	38		86
2. Liquide de MAYER + matière organique activante.....	8°872	49	+ 11	121
3. Liquide de MAYER + matière organique activante traitée par KOH	3°681	29	— 9	68

Caractères similaires et différents des vitamines et du facteur accélérant la croissance des micro-organismes. Utilisation de ce facteur.

Les faits accumulés ici ne nous permettent plus de douter de la valeur de certains composés issus de la trame vivante des organismes inférieurs sur leur propre métabolisme.

Corps de nécessité sans doute facultative aux êtres vivants dans de bonnes conditions, et peut-être aussi grâce aux facteurs qui ont présidé à la vie de leurs ascendants immédiats ; corps au contraire indispensables lorsque ces mêmes organismes avaient souffert d'une manière quelconque, se trouvant alors dans un état manifeste de déchéance physiologique.

Cette substance est-elle une vitamine, peut-elle y être assimilée ou non ? Il faudrait, pour répondre catégoriquement à une telle question, commencer par savoir ce que sont au juste les vitamines ; connaître pour le moins la signification physiologique de ces composés et, nous l'avons déjà dit, la nature exacte des troubles causés par leur absence. Or, sachant devant l'étendue du problème le peu de chose réuni par la science sous ce terme, conclure, supposerait avoir sur les facteurs accessoires de la croissance et de l'équilibre des données que nous ne possédons malheureusement pas encore.

A l'heure actuelle, une seule chose est possible :

C'est faire le tri parmi les faits et les classer en similaires ou différents, suivant les circonstances.

Mais avant, souvenons-nous que les bactéries et autres

végétaux dont nous nous sommes occupé sont capables de se développer dans des milieux dépourvus de tout facteur accessoire, condition qui, ajoutée à la faculté qu'ont ces êtres de synthétiser de tels corps, les placent *ipso facto* sur un terrain particulier.

Dans le groupe des caractères divergents, nous placerons donc :

1° *Un besoin de chauffage préalable pour que le composé organique acquiert la qualité accélératrice ;*

2° *Son allure thermostable vis-à-vis de températures funestes ordinairement aux facteurs A et B ;*

3° *Sa présence dans les grains de riz décortiqués.*

Par contre, nous citerons les faits similaires suivants :

1° *Sa nature organique et son action à dose infinitésimale sur l'allure de la croissance des tallophytes ;*

2° *Sa destruction par les cellules adultes ; par dessiccation à température ordinaire ; par le radium et par ébullition en solution alcaline ;*

3° *Son caractère véritablement accessoire nécessitant un couvert des éléments minéraux indispensables pour agir efficacement ;*

4° *Son absence dans la gélatine (1).*

Si les trois premiers points forment le côté distinctif de notre substance d'avec les facteurs nécessaires au règne animal et dont les caractères devront un jour être ou circonscrits davantage ou plus libéralement groupés, les quatre derniers alinéas, par contre, sont de nature à faire prendre figure de véritable vitamine de croissance, au corps que nous avons obtenu cristallisé, et dont on connaît l'influence si prépondérante sur l'évolution des infiniment petits.

(1) Nous nous en sommes aperçu à plusieurs reprises au cours de nos recherches.

Comme nous avons signalé, au cours de ce travail, plusieurs corps organiques agissant d'une façon analogue, comme, d'autre part, il nous a été possible de mettre en évidence des matières similaires d'origine animale provenant d'urine et de lait, comme, enfin, nous avons pu retirer du riz un corps à fonction équivalente, peut-être y a-t-il plus d'identité entre les réactions provoquées par ces substances, qu'entre ces substances elles-mêmes.

*
* *

Les chiffres qui nous ont frappés au cours de cette étude, peuvent ne pas rester stériles quant à leurs enseignements.

En effet, ils nous font entrevoir le gros avantage que les micro-organismes maniés par l'homme, sont susceptibles de tirer des corps accélérateurs, lorsqu'au laboratoire, comme dans l'industrie, ceux-ci y ont été judicieusement placés.

A cet égard, souvenons-nous :

Premièrement : que si les diverses espèces microbiennes ne se montrent pas toujours aussi aptes à la synthèse de ces composés organiques actifs, rien n'empêche *a priori* les grands végétaux habituellement employés à la confection des milieux de culture d'offrir également de telles différences. Il est même vraisemblable que leur richesse en ces composés doit varier d'une espèce végétale à l'autre, non seulement pour des raisons purement physiologiques, mais aussi, on le comprend aisément, pour des causes inhérentes à l'âge de leur récolte, ainsi qu'à leur mode et durée de conservation.

Deuxièmement : le besoin de chauffage à 85-90 degrés nécessaire à la révélation du facteur accélérateur — nous apprend que la plupart des milieux naturels doivent gagner à être portés, soit en partie, soit en totalité, à cette température, avant leur utilisation, et ne peuvent en tous les cas, être ac-

cusés d'un déficit en cette substance, qu'après avoir subi une température d'essai convenable. Nous pensons, en écrivant ces lignes, aux industries de fermentation.

Dans le même ordre d'idée, cette nécessité de chauffage peut expliquer aussi pour une certaine part, les mécomptes que donna parfois l'analyse chimique des matériaux utilisés à la confection de divers milieux biologiques : ceux-ci s'étant montrés bien souvent suffisants au point de vue minéral, mais sans doute d'une carence insoupçonnée en ces corps accélérateurs dont l'intérêt nous semble maintenant indiscutable, précisément quant au but les ayant fait choisir.

L'importance physiologique du facteur capable d'influencer d'une façon si considérable l'évolution des infiniment petits nous fait entrevoir encore un peu plus la complexité de leurs échanges. Il nous montre d'une part que leur nutrition est loin d'être aussi simplifiée que n'était en droit de nous le faire supposer leur apparente simplicité. Il nous enseigne d'autre part que l'adaptation des micro-organismes aux solutions minérales ne peut être *optimum* quelle que soit la formule proposée.

Enfin, de tels faits apprennent que le développement plus ou moins luxuriant des saprophytes en décoction végétale est dû, pour une part tout ou moins, à une catégorie de corps différents de ceux utilisés par ces mêmes êtres dans la nature.

CONCLUSIONS

Il ressort des recherches précédentes quelques points intéressant la microbiologie au premier chef, et l'évolution des végétaux inférieurs d'une manière générale.

Nos conclusions seront les suivantes :

I. — Il nous a été possible d'établir des milieux biologiques notoirement débarrassés de facteurs accessoires — tels que ceux-ci apparaissent en physiologie animale — sans que nous ayons constaté pour cela, et par rapport à de nombreux témoins, la moindre perturbation dans la vie des micro-organismes qui y proliférèrent.

L'adjonction de vitamines n'est donc pas nécessaire au développement des végétaux inférieurs, du moins à ceux que nous avons étudiés ici.

II. — Nous avons pu, en milieux minéraux appropriés et stérilisés 1 h. 30 à 130 degrés, cultiver bon nombre de bactéries, saccharomyces et mucors. Leur évolution dans ces conditions fut toujours complète, quoique présentant un fort retard, et souvent même un déficit en poids total de végétal récolté, sur des témoins effectués en milieux naturels, malgré leur teneur approximative en sucre, acidité totale, azote, etc.

Les solutions minérales chimiquement pures ne représentent donc pas de milieux optima, même lorsque les êtres qui y vivent ont un couvert total de leurs besoins minéraux.

III. — Cette différence de vitesse dans la prolifération peut être non seulement comblée, mais encore sensiblement accrue dans le sens inverse par l'apport de quelques minimes fractions d'un milieu minéral analogue, ou proliféra auparavant une espèce identique, ou différente.

Certaine molécule organique constitue donc pour une part, et à très faible dose, la supériorité des milieux naturels.

IV. — Cette culture additionnelle :

a) ne dévoile son action qu'après avoir été portée à 85-90 degrés ;

b) ne perd pas son pouvoir malgré un passage même prolongé à l'autoclave, à haute température (1 heure 30 à 130 degrés).

Caractères différents de ceux révélés par l'étude des vitamines.

V. — Nous avons pu isoler, à l'état pur, cette substance accélératrice, d'une culture de *Mucor Mucedo* effectuée en milieu de Mayer.

C'est une matière organique cristallisable et fusible vers 170 degrés (chaleur sèche).

Ce corps acélérateur est donc relativement thermostable.

VI. — L'évolution de l'*Aspergillus niger* bénéficie nettement de la présence de ce corps, lorsqu'il est ajouté au liquide de Raulin.

L'être le moins exigeant en matière organique est donc néanmoins très sensible à l'action de cette substance.

VII. — Le développement des micro-organismes en milieu chimiquement défini, et sans facteurs accessoires d'aucune sorte, diffère sensiblement pour une même espèce, suivant les pourcentages respectifs de chaque élément constitutif.

En présence de traces de matière accélératrice, ces espèces supportent des concentrations salines bien supérieures, tout en proliférant d'une façon beaucoup plus satisfaisante.

Le métabolisme des infiniment petits est donc favorablement influencé par la présence de corps issus de la vie végétative.

VIII. — L'expérience et l'analyse nous apprirent que la matière accélératrice dont nous nous sommes occupé appartient au métabolisme du carbone, et ne renferme pas autre chose, hormis ce dernier, que de l'hydrogène et de l'oxygène.

Il est donc nécessaire d'écarter tout hypothèse attribuant les accélérations constatées à un métal ou métalloïde hypothétique.

IX. — La fragilité de ce corps accélérateur vis-à-vis de la dessiccation, du radium et de certaines températures, son action à dose si minime, sur les êtres végétant en milieux chimiquement *optimum*, sa création par de jeunes cellules, sa disparition dans de vieilles cultures, font que, malgré les deux caractères signalés au paragraphe IV, *cette substance par quelques côtés — tant biologiques que chimiques — se rapproche des vitamines sans pouvoir y être assimilée.*

Je ne veux pas terminer ce travail, sans remercier très sincèrement de tous ses conseils, M. Kayser, à qui je dois l'idée de ces recherches.



BIBLIOGRAPHIE

I. — Nutrition des microbes.

BESSON. Technique microbiologique et sérothérapique (6^e édit.). Paris, Baillière (1914).

Bulletin de l'Institut Pasteur. Années 1914 et suivantes.

DOPTER et SACQUÉPÉE. Précis de bactériologie. Paris, Baillière (1914).

DERIBÈRE DESGARDES. Formulaire des milieux de culture en microbiologie (1921).

DUCLAUX. Traité de microbiologie.

A. GUILLIERMOND. Les levures. Octave Doin. Paris (1912).

E. KAYSER. Microbiologie. J.-B. Baillière (1921).

E. MACE. Traité pratique de bactériologie. T. I, page 224. J.-B. Baillière.

J. RAULIN. Etude chimique sur la végétation, thèse. Paris.

II. — Les facteurs accessoires de la croissance.

AGULHON et LEGROUX. *Comptes rendus Académie des Sciences*. T. CLXVII (1918).

BOTTOMLEY. A bacterial test for plant food accessories substances (Auximones). Some effects of organic growth promoting subs-

- stances (Auximones) on the growth of *lemna minor* in mineral culture solution. *Proceed Roy. Soc.* T. LXXXIX, p. 102 et suiv.
- Harriett CHICK et Margaret HUME, The distribution in wheat rice, and maize grains of the substance, the deficiency of which in a diet causes polyneuritis in birds and beriberi in man. *Proceed Roy. Soc. Biol.* T. XC, p. 144 (1917).
- The effect of exposure to temperature at or above 100° upon the substance (Vitamine) whose deficiency in a diet causes polyneuritis in birds and beriberi in man. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXII, p. 87-90 (1917).
- Amy L. DANIELS et Nell B. NICHOLS. The nutritive value of the soy bean. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXII, p. 91 (1917).
- Frank E. CARRUTH. Methode for approximating the relative toxicity of cotton seed products. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXII, p. 87-90 (1917).
- Amy L. DANIELS et Nell I. Mc. CLURG. Influence of high temperature and dilute alkalies on the antineuritic properties of foods. *Journ. N. of Biol. Chem.*, p. 201, 215 (1919).
- Mc COLLUM, N. SIMMONDS, W. PITZ. The supplementary dietary relations hip between leaf and seed as contrasted with combinations of seed with seed. *Journ. Biol. Chem.* T. XXX, pages 13-32 (1917).
- Mc. COLLUM, N. SIMMONDS et PARSONS. *Ibidem.* T. XXXIII, pages 411-423 (1917).
- E. V. Mc. COLLUM et W. PITZ. The vitamines hypothesis and deficiency diseases. A study of experimental scurvy. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXI, p. 229-253 (1917).
- Mc. COLLUM et N. SIMMONDS. A study of the dietary essential water-soluble B in relation to its solubility and stability towards reagents. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXIII, p. 55 à 89 (1917).
- The nursing mother as a factor of safety in the nutrition of the young. *American Journ. of Physiol.* T. XLVI, n° 3, pages 275-313 (1918).

- Sydney W. COLE et D. JORDAN I. LOYD. *Journ. of Path. and Bact.*, 21, p. 267 (1916).
- A. D. EMMET et L. H. KIM. The value of the yeast vitamin fraction as a supplement to a rice diet. *Journ. Biol. Chem.*, T. XXXII, p. 409-420 (1917).
- EYKMAN. *Virchow's Archiv.*, 148, p. 523 (1897).
— *Archiv. f. hyg.*, p. 150-170 (1906).
- FLACK. Note on the constituent of the pea flour augmenting growth of the meningococcus on the tryptagar medium. *British Med. Journ.*, 1.2, p. 682-684 (1916).
- FUNK Casimir. *J. of Physiol.*, T. XLV, p. 75 (1912).
— *Ergebnisse der Physiologie.* T. XIII (1913).
— *Bioch. J.* T. VII, p. 211 (1913).
— *Zeitch. f. Phys. Chem.*, T. LXXXVIII, p. 352, 1913, p. 89, 1914.
— Studies on Growth : the influence of diet on Growth normal and malignant. *The Lancet*, 10 janvier 1914, p. 98-100.
- FUNK et COOPER. *The Lancet*, p. 1267 (1911).
- FUNK et MACALLUM. Die chemischen determinanten des Wachstums. *Zeit. f. Phys. Chem.* T. XCI, p. 13-20 (1914).
- FUNK Casimir. Les Vitamines Bergmann, Wiesbaden (1914).
- E. GLEY. Le besoin d'aliments spéciaux. *Revue Scientifique* n° 11 (1917).
— *Traité de physiologie.* T. II, p. 706.
- E. M. K. GELLING. The nutritive value of the diaminoacids occurring in proteins for the maintenance of adult mice. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXI, p. 173-199 (1917).
- E. B. HART, J. G. HALPIN, H. STRENBOK. The behaviour of chickens restricted to the weat of maize kernel. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXI, p. 415 (1917).
- H. HOGAN Albert. The effect of high temperatures on the nutritive value of foods. *Journ. Biol. Chem.* T. XXX, p. 115 (1917).

- HOPKINS. Feeding experiments illustrating the importance of accessory factors in normal dietaries. *J. of Physiol.*, 44, 125 (1912).
- HOPKINS et WILLCOCK. Mémoires sur la nutrition azotée (1906) (signalé par le *Bulletin de la Société Scientifique d'Hygiène Alimentaire*) (1918).
- E. LAMBLING. Précis de biochimie, pages 310-311 et 521-523 (1918).
- G. LINOSSIER. *Comptes rendus des séances de la Société de Biologie*, n° 11 (12 avril 1919) et n° 11 (20 mars 1920).
- A. LUMIÈRE. *Ann. de l'Institut Pasteur*, n° 1 (janvier 1921).
- P. MAZE. Recherches d'une solution purement minérale capable d'assurer l'évolution complète du maïs cultivé à l'abri des microbes. *Annales de l'Institut Pasteur*. T. XXXIII, p. 138 (1919).
- MOCKERIDGE FLORENCE. Some effects of organic growth promoting substances (Auximones) on the soil organismus concerned in the nitrogen cycle. *Proceed. Roy. Soc.* T. LXXXIX, p. 508 et suivantes.
- OSBORNE et MENDEL. *Publication of Carnegie Institute*, n° 156. T. I et II.
- *Journ. of Biol. Chem.* T. XII, p. 13 (1912).
 - *Zeit. f. Phys. Chem.* bd. 80, p. 307 (1912).
 - *Journ. of Biol. Chem.* T. XIII, p. 233 (1912), T. XVI, p. 423 (1913), T. XVII, p. 325 et 401 (1914).
- OSBORNE, MENDEL et FERRY. Feeding experiments with isolated food-substances. *Public. of the Carnegie Inst.*, Washington, n° 156. T. I and II.
- Feeding experiments with, fat-free food mixtures. *J. of Biol. Chem.*, 12, 81 (1912).
 - Beobachtungen über Wachstum bei Fütterungsversuchen mit isolierten Nahrungssubstanzen. *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, 90, 307 (1912).
 - Maintenance experiments with isolated proteins. *J. of Biol. Chem.*, 13, 233 (1912).
- Bulletin Institut Pasteur*, n° 2, 30 janvier 1919, p. 58.

Bulletins de la Société Scientifique d'Hygiène Alimentaire.

A. J. P. PACINI et D. W. RUSSELL. The presence of a growth producing substance in cultures of typhoid bacilli. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXIV, p. 43-49 (1918).

PORTIER. *Bulletins de la Société d'Hygiène Alimentaire* (1920).

SCHAEFFER. Facteurs accessoires de la croissance et de l'équilibre.

Bulletin de l'Institut Pasteur, 15 janvier 1919. 30 janvier 1919.

— Le bériberi et les vitamines de Kunk, un problème de physiologie générale. *Biologica*, 15 avril 1914, p. 108-113.

Atherton SEIDELL. *U. S. Publ. Health Reports*, 31 n° 364.

W. STÉEP. *Bioch. Zeitsch.* 1919, p. 452. *Zeitsch. f. Biol.*, 1912, p. 135, 171.

II. STEENBOCK, A. B. NANT et D. W. SMITH. Action de la chaleur sur les propriétés antiscorbutiques de quelques produits lactés. *Journ. of Biol. Chem.*, 1919, p. 305, 324.

P. PORTIER et H. BIERRY. Action des symbiotes sur les constituants de graisses. *C. Rend. Acad. Sc. T. CLXVI*, p. 1055 (juin 1918).

— Vitamines et Symbiotes. *C. Rend. Acad. Sc. T. CLXVI*, page 963 (1918).

— Importance de la fonction cetonique dans le métabolisme. Sa création par les symbiotes. *C. Rend. Acad. Sc. T. CLXVII*, p. 95 (1918).

— Innocuité de l'introduction des symbiotes dans le milieu intérieur des vertébrés. *C. Rend. Soc. Biol. T. LXXXI*, p. 480 (1918).

A. RICHARDSON et H. GREEN. II. Nutrition investigations upon cottonseed meal. *Journ. Biol. Chem. T. XXX*, p. 243-258 (1917).

— III. Cottonseed flour. The nature of its growth promoting substances and a study in protein minimum. *Journ. Biol. Chem. T. XXXI*, p. 379 (1917).

Mary S. ROSE et Lenna COOPER. The biological efficiency of potato nitrogen. *Journ. Biol. Chem. T. XXX*, p. 201-204 (1917).

Cydney COLE et D. Jordan LLOYD. The preparation of solid and

liquid media for the cultivation of the genococcus. *Journ. of Pathol. and Bacter.* T. XXI, p. 267 (1916-1917).

WEILL et G. MOURIGAND. Les maladies par carence. Carence expérimentale, carence clinique. *Revue de Médecine.* T. XXXV, p. 1 à 107 (1906).

— Recherche sur la carence alimentaire. Effets comparés de la nourriture exclusive des chats, par la viande crue, congelée, salée, cuite et stérilisée. *Comptes rendus des séances de la Soc. de Biol.*, 4 mars 1916.

— Les maladies par carence. *Revue de Médecine*, n° 1, janvier 1916.

— Recherches sur les maladies par carence, troubles paralytiques provoqués par une alimentation variée, mais exclusivement à base de céréales décortiquées. *Soc. Méd. des Hôp. de Lyon. Lyon Médical.* T. II, p. 82 (1914).

C. WHITE et C. VOEGELIN. *Journal of Pharmacology and Exper. Therap.* Décembre 1916, pages 155, 166.

ROBERT R. WILLIAMS. *Journal of Biol. Chem.*, 1916, p. 437-445, Washington, U. S. Dep. of the Agric. Bureau of Chem.

WITHERS et CARRUTH. Iron as an antidote to cottonseed meal injury. *Journ. Biol. Chem.* T. XXXII, p. 245 (1917).

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté

CHIMIE ORGANIQUE :

Acides aminés dans leurs rapports avec les albuminoïdes

PHYSIOLOGIE :

Les co-ferments

Vu et approuvé .

Paris, le 18 avril 1921.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,

M. MOLLIARD

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,

APPELL



TABLE DES MATIERES

PREMIERE PARTIE

INTRODUCTION	9
--------------------	---

CHAPITRE PREMIER

I. Le processus nutritif chez les végétaux et leur phénomène de croissance	13
II. Le processus nutritif chez les animaux et le rôle des vitamines dans leur croissance	21
III. Les vitamines sont-elles nécessaires à la croissance des végétaux	27
IV. La supériorité des milieux naturels en microbiologie appartient à une espèce de molécule synthétisable également par les bactéries	41
V. Action spécifique des molécules accélératrices synthétisées par les végétaux inférieurs	57
VI. Action de facteur accessoire de la croissance sur des saccharomyces en mauvais état de résistance physiologique	63
VII. A quelle époque de la vie cellulaire les molécules organiques accélératrices sont-elles engendrées ? Conditions présidant à leur disparition	69
VIII. Quantités minimum, optimum et nocive du facteur agissant sur la croissance des végétaux inférieurs	79
IX. Conditions nécessaires pour que les molécules organiques accélératrices révèlent leur pouvoir	83

CHAPITRE II

- I. Technique permettant d'obtenir la substance accélératrice à l'état pur et cristallisable 87
- II. L'action de molécules organiques accélérant la croissance des micro-organismes, ne peut être confondue avec les phénomènes similaires causés par divers minéraux..... 97

CHAPITRE III

- I. Action d'un facteur engendré par voie biologique sur la croissance de l'*Aspergillus niger* cultivé en milieu Raulin 101
- II. Action du facteur accélérant la croissance sur l'assimilation des divers constituants d'un milieu minéral donné. 105
- III. Les saccharomyces peuvent se développer en milieu dépourvu de facteurs accessoires quel qu'il soit..... 111

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

- I. A quel métabolisme appartient la synthèse des molécules accélérant la prolifération des microbes..... 123
- II. Composition chimique élémentaire de la substance accélérant l'évolution des végétaux inférieurs 127

CHAPITRE II

- I. Action de la chaleur sur les molécules accélérant la croissance 129
- II. Action du radium sur les molécules accélérant la croissance 135

III. Action des rayons ultra-violetes sur les molécules accélérant la croissance	137
VI. Action de l'ébullition en milieu alcalin sur les molécules accélérant la croissance	139
V. Caractères similaires et différents des vitamines et des facteurs accélérant la croissance des microorganismes. Utilisation de ce facteur	141
CONCLUSIONS	145
BIBLIOGRAPHIE	151

